



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO CAMPUS MORRINHOS
GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

TRABALHO DE CURSO

**RECUPERAÇÃO DE OÓCITOS EM DOADORAS GIR E
GIROLANDO**

LARISSA MENDES CRUVINEL
Orientadora:
Profa. Dsc. Aline Sousa Camargos

MORRINHOS
2019



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO CAMPUS MORRINHOS
GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

LARISSA MENDES CRUVINEL

**RECUPERAÇÃO DE OÓCITOS EM DOADORAS GIR E
GIROLANDO**

Trabalho de Curso de Graduação
em Zootecnia do Instituto Federal
Goiano – Campus Morrinhos, como
parte das exigências para obtenção do
título de Bacharel em Zootecnia.

Orientadora:
Profa. Dsc. Aline Sousa Camargos

MORRINHOS
2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/IF Goiano Campus Morrinhos

C955r Cruvinel, Larissa Mendes.
Recuperação de oócitos em doadoras Gir e Girolando. / Larissa Mendes
Cruvinel. – Morrinhos, GO: IF Goiano, 2019.
29 f. : il.

Orientadora: Dra. Aline Sousa Camargos.

Trabalho de conclusão de curso (graduação) – Instituto Federal Goiano
Campus Morrinhos, Bacharelado em Zootecnia, 2019.

1. Gado - Reprodução. 2. Bovinos de leite - Melhoramento genético. 3.
Bovinos - Inseminação artificial. I. Camargos, Aline Sousa. II. Instituto
Federal Goiano. III. Título.

CDU 636.2.034

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

Identificação da Produção Técnico-Científica

- | | | | | |
|--|---|-------------|---|-------|
| <input type="checkbox"/> Tese | <input type="checkbox"/> Artigo Científico | | | |
| <input type="checkbox"/> Dissertação | <input type="checkbox"/> Capítulo de Livro | | | |
| <input type="checkbox"/> Monografia – Especialização | <input type="checkbox"/> Livro | | | |
| <input checked="" type="checkbox"/> TCC – Graduação | <input type="checkbox"/> Trabalho Apresentado em Evento | | | |
| <input type="checkbox"/> Produto Técnico | e | Educacional | - | Tipo: |

Nome Completo do Autor: Larissa Mendes Cruvinel
Matrícula: 2015104201810014
Título do Trabalho: Recuperação de oócitos em doadoras Gir e Girolando

Restrições de Acesso ao Documento

Documento confidencial: Não Sim, justifique: _____

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: 17/03/2020

O documento está sujeito a registro de patente? Sim Não
O documento pode vir a ser publicado como livro? Sim Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O/A referido/a autor/a declara que:

- o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Morrinhos, 16/03/2020.



Assinatura do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

Ciente e de acordo:



Assinatura do(a) orientador(a)



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO
CAMPUS MORRINHOS

Anexo 6

ATA DE DEFESA DO TRABALHO DE CURSO – TC

No dia 22 de NOVEMBRO de 20 19, às 07 : 30 horas, nas dependências do Instituto Federal Goiano campus Morrinhos, ocorreu a banca de defesa do trabalho de curso (TC) intitulado: Recuperação de oócitos em doadoras G1R e G1ROLANDO

do(a) aluno(a) LARISSA MENDES CRUVINEL,

sob a orientação do(a) professor(a) ALINE SOUSA CAMARGOS

do Curso Bacharelado em Zootecnia. A banca de avaliação foi composta pelos membros WALLACY BARBACENA ROSA DOS SANTOS e GRAZIELA TAROCO.

A média obtida foi 9,3 (nove vírgula três), sendo considerado o(a) aluno(a):

() aprovado

aprovado com ressalvas.

() reprovado

() não compareceu.

Morrinhos, 22 de NOVEMBRO de 2019.

Professor Orientador

Co-orientador

Membro 1

Membro 2

LARISSA MENDES CRUVINEL

**RECUPERAÇÃO DE OÓCITOS EM DOADORAS GIR E
GIROLANDO**

Trabalho de Curso de Graduação
em Zootecnia do Instituto Federal
Goiano – Campus Morrinhos, como
parte das exigências para obtenção do
título de Bacharel em Zootecnia.

Orientadora:
Profa. Dsc. Aline Sousa Camargos

APROVADA: em 22 de novembro de 2019.

Msc. Graziela Tarôco
(Membro da banca)

Dsc. Wallacy Barbacena Rosa dos Santos
(Membro da banca)

Profa. Dsc. Aline Sousa Camargos
(Orientadora)

ÍNDICE

RESUMO	5
ABSTRACT	6
INTRODUÇÃO	7
MATERIAIS E MÉTODOS	9
RESULTADOS E DISCUSSÃO	10
CONCLUSÃO	23
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24

RESUMO

CRUVINEL, Larissa Mendes, Instituto Federal Goiano - Campus Morrinhos, novembro de 2019. **Recuperação de oócitos em doadoras Gir e Girolando**. Orientadora: Aline Sousa Camargos.

A raça Girolando, de início, foi gerada com o intuito de se ter uma descendência própria do Brasil que fosse habilitada para produção leiteira. Já o Gir leiteiro, é o gado Zebu com a maior taxa de eficiência de produção sob condições tropicais. Em bovinos, o processo de produção *in vitro* de embriões (PIV), em parceria com a aspiração folicular guiada por ultrassom (OPU), aparece como ferramenta de potencialização da competência reprodutiva. Desse modo, o objetivo deste trabalho foi comparar o desempenho de fêmeas Gir e Girolando quanto ao número e qualidade dos oócitos recuperados por meio da técnica de OPU e após o cultivo *in vitro* dos oócitos. Para tanto, foram levantados os dados das aspirações foliculares guiadas por ultrassom e cultivo *in vitro* de oócitos (CIV) de doadoras das raças Gir e Girolando, durante os anos de 2013, 2014 e 2015. Um total de 113 doadoras, sendo 41 da raça Gir e 72 da raça Girolando. As características analisadas foram: número de oócitos totais, viáveis e não viáveis, quantidade de oócitos grau I, II, III e a % de oócitos viáveis após cultivo *in vitro*, além da avaliação da significância dos efeitos (raças e anos) por Análise de Variância utilizando o procedimento PROC GLM do Statistical Analysis System. A comparação do desempenho das raças apontou a Girolando como detentora dos melhores resultados. Exibindo valores de $32,20 \pm 14,51$ para oócitos totais, $26,91 \pm 12,37$ oócitos viáveis, $3,53 \pm 3,90$ oócitos grau I e $28,15 \pm 13,72$ para a % de oócitos viáveis após a CIV. Isso graças a uma característica que é tida como seu grande trunfo: a heterose. Enquanto isso, a raça Gir apresentou $25,28 \pm 13,22$ oócitos totais, $21,31 \pm 11,94$ oócitos viáveis, $2,24 \pm 3,36$ oócitos de grau I e $21,99 \pm 11,99$ para a % de oócitos viáveis após a CIV. A análise de regressão quadrática em função dos meses foi significativa ($p < 0,05$) para oócitos não viáveis, grau I e grau III. Neste contexto, os conhecimentos *in vivo* e em laboratório sustentam a ideia de que os oócitos de fêmeas bovinas são vulneráveis ao estresse térmico. A correlação fenotípica atestou que a seleção de fêmeas Gir e Girolando para planos de melhoramento genético deve ser feita de acordo com a quantidade de oócitos totais produzidos por fêmea, pelo fato dessa aptidão estar altamente correlacionada fenotipicamente com oócitos grau II ($r = 0,74$), oócitos viáveis ($r = 0,96$) e % de viáveis após o cultivo *in vitro* ($r = 0,92$). Concluiu-se então, que as fêmeas Girolando apresentaram melhor desempenho para quantidade e qualidade de oócitos. Assim como foram superiores também na proporção de oócitos viáveis após o cultivo *in vitro*. Palavras-chave: bovino de leite, performance, OPU.

ABSTRACT

CRUVINEL, Larissa Mendes, Instituto Federal Goiano - Campus Morrinhos, november of 2019. **Oocyte recovery in Gir and Girolando donors.** Adviser: Aline Sousa Camargos.

The Girolando breed, at first, was generated with the intention of having a Brazilian descent that was qualified for milk production. The dairy Gir, on the other hand, is the Zebu cattle with the highest rate of production efficiency under tropical conditions. In cattle, the process of in vitro embryo production (PIV), in partnership with ultrasound-guided follicular aspiration (OPU), appears as a tool to enhance reproductive competence. Thus, the objective of this study was to compare the performance of Gir and Girolando females in terms of the number and quality of oocytes recovered using the OPU technique and after in vitro culturing of oocytes. To this end, data were collected on follicular aspirations guided by ultrasound and in vitro oocyte culture (CIV) from donors of the Gir and Girolando breeds, during the years 2013, 2014 and 2015. A total of 113 donors, 41 of which are Gir and 72 are Girolando. The characteristics analyzed were: number of total, viable and non-viable oocytes, quantity of oocytes grade I, II, III and % of viable oocytes after in vitro culture, in addition to the evaluation of the significance of the effects (races and years) by Analysis of Variance using the PROC GLM procedure of the Statistical Analysis System. The comparison of the breeds' performance indicated Girolando as the holder of the best results. Showing values of 32.20 ± 14.51 for total oocytes, 26.91 ± 12.37 viable oocytes, 3.53 ± 3.90 grade 1 and 28 oocytes, 15 ± 13.72 for the % of viable oocytes after CIV. This is thanks to a trait that is considered its great asset: heterosis. Meanwhile, the Gir breed showed 25.28 ± 13.22 total oocytes, 21.31 ± 11.94 viable oocytes, 2.24 ± 3.36 grade I oocytes and 21.99 ± 11.99 for the % of viable oocytes after CIV. The analysis of quadratic regression as a function of months was significant ($p < 0.05$) for non-viable oocytes, grade I and grade III. In this context, in vivo and laboratory knowledge supports the idea that oocytes from bovine females are vulnerable to thermal stress. The phenotypic correlation attested that the selection of Gir and Girolando females for genetic improvement plans must be made according to the amount of total oocytes produced per female, because this ability is highly phenotypically correlated with grade II oocytes ($r = 0.74$), viable oocytes ($r = 0.96$) and % viable after in vitro culture ($r = 0.92$). It was concluded, then, that Girolando females had better performance for quantity and quality of oocytes. They were also higher in the proportion of viable oocytes after in vitro culture. Keywords: milk cattle, performance, OPU.

INTRODUÇÃO

O Brasil tem papel de destaque na área de emprego das tecnologias da reprodução em animais, em especial com o uso de embriões (MIYAUCHI, 2011). A indústria de embriões do rebanho bovino cresceu consideravelmente nos últimos dez anos. No país, esse crescimento é associado ao desenvolvimento do processo de produção *in vitro*. Em especial, nos animais produtores de leite (OLIVEIRA, 2011).

Muito embora, em 2018, um artigo publicado pelo Jornal O Embrião tenha apontado uma redução no número de embriões gerados em laboratório nos anos de 2014 e 2015. Esta queda foi atribuída à estagnação da economia desse período. Desde então, os números têm apresentado estabilidade, com um total de 345.528 embriões produzidos *in vitro* em território brasileiro. Havendo uma variação menor que 1% entre os anos de 2016 e 2017 (VIANA, 2018). A procura por animais com características gênicas superiores é cobiçada, em especial, para rebanhos onde o objetivo é o aumento da produtividade leiteira e/ou de carne diariamente, visando ganhos mais expressivos (SIMÃO e CARVALHO, 2013).

A produção *in vitro* de embriões (PIV) é dividida nos seguintes passos: aspiração folicular guiada por ultrassom (do inglês, *ovum pick up* - OPU), cultivo *in vitro* dos oócitos (CIV), fertilização *in vitro* (FIV) e implantação dos embriões nas receptoras previamente sincronizadas (OLIVEIRA, 2011). A recuperação dos oócitos pode se dar de duas maneiras distintas, sendo de ovários oriundos de abatedouro ou a aspiração folicular guiada por ultrassom, realizada *in vivo* (BOLS, 2012). Leeuw (2006) afirma que o conforto do animal é grande sob a técnica de OPU, pois não existe a exigência da aplicação de substâncias injetáveis, tampouco de manejos complementares como ocorre durante a aplicação de protocolos de superovulação utilizados na outra técnica de transferência de embriões (TE). A maneira mais comumente utilizada para seleção das fêmeas receptoras é a avaliação da presença de corpo lúteo, identificado através da palpação transretal (ANDRADE et al., 2012).

Em bovinos, o processo de PIV, em parceria com a OPU, aparece como ferramenta de potencialização da competência reprodutiva desses animais, reduzindo o espaço entre os descendentes e agilizando a evolução genética do gado (VARAGO; MENDONÇA; LAGARES, 2008). Ainda segundo Bueno e Beltran (2008), o propósito central desse método é a aquisição dos embriões de fêmeas que já não originam filhos por meios naturais. Como por exemplo, as que tenham problemas de fecundidade, causado pelo uso terapêutico de hormônios, como a gonadotrofina, ou ainda pela alteração doente de seu artefato reprodutivo.

O Gir leiteiro é o gado Zebu com a maior taxa de eficiência de produção sob condições tropicais. Essa categoria, oriunda da Índia, passa por uma época de notoriedade por ostentar particularidades adaptadas e propícias que auxiliam na conquista de índices progressivos dentro da atividade leiteira nacional e internacional (ABCGIL, 2015).

A raça Girolando, de início, foi gerada com o intuito de se ter uma descendência própria do Brasil que fosse habilitada para produção leiteira. Podendo ser criada sob circunstância de clima subtropical e tropical, diante de uma metodologia que tenha viabilidade financeira. Sendo essa linhagem essencialmente resultado do acasalamento entre animais Holandeses e Gir, transpondo diversos graus sanguíneos (SILVA et al., 2010). É considerada uma raça artificial que também teve como propósito a completividade entre tais linhagens (FIALHO et al., 2018). As habilidades dessa raça possibilitam seu uso na produção de leite em variadas regiões, sob distintas condições de manuseio, sendo o gado Girolando, responsável por mais de 80% da produção leiteira do país (SILVA et al., 2010).

Desse modo, o objetivo deste trabalho foi comparar o desempenho de fêmeas Gir e Girolando quanto ao número e qualidade dos oócitos recuperados por meio da técnica de aspiração folicular guiada por ultrassom e após o cultivo *in vitro* dos oócitos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foi realizado um levantamento de dados das aspirações foliculares guiadas por ultrassom e cultivo *in vitro* de oócitos, oriundos de doadoras das raças Gir e Girolando, durante os anos de 2013, 2014 e 2015. Assim, este estudo foi dispensado de avaliação pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA).

Os dados analisados foram coletados no Laboratório de Biotecnologia da Reprodução da Samvet Embriões, localizado na Fazenda São Caetano, município de Morrinhos, região sul de Goiás. Para tanto, foram utilizados os dados das aspirações foliculares de 113 doadoras, sendo 41 da raça Gir e 72 da raça Girolando.

Foram ao todo 653 repetições das quais foram analisadas 645, devido à exclusão de animais que possuíam apenas um registro de aspiração do banco de dados. Essa filtragem teve como intuito utilizar apenas fêmeas aspiradas com maior frequência. Os oócitos recuperados foram manipulados no laboratório localizado na própria fazenda.

As doadoras eram mantidas a pasto, recebendo suplementação mineral e volumosa na seca, composto de silagem de milho juntamente com grama ou capim cortado. As aspirações aconteciam com intervalo mínimo de 15 dias. O calendário de vacinação continha imunização contra febre aftosa e raiva. Nenhuma das doadoras foi submetida a superovulação.

Foram levantados os dados referentes a: número de oócitos totais após OPU, número de oócitos viáveis e não viáveis, quantidade de oócitos grau I, II, III e a % de oócitos viáveis após o cultivo *in vitro* durante os anos de 2013, 2014 e 2015.

Para as análises estatísticas, foi realizada a estatística descritiva para as características analisadas (número de oócitos totais, viáveis e não viáveis, de graus I, II e III após OPU e % de viáveis após cultivo *in vitro*). A avaliação da significância dos efeitos (raças e anos) foi realizada por Análise de Variância, utilizando-se o procedimento PROC GLM do Statistical Analysis System (SAS Institute, 2008). Também foram realizadas as análises de regressão (PROC REG) linear, quadrática e correlação fenotípica (PROC COR). Para tanto, assumiu-se um nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de recuperação oocitária, qualidade dos oócitos após a aspiração e após o cultivo *in vitro* estão expostos na tabela 1.

Tabela 1. Estatística descritiva por raça (Gir e Girolando) para as características oócitos totais, não viáveis, viáveis, grau I, grau II, grau III e % de oócitos viáveis após cultivo *in vitro* (CIV) para doadoras

Raça	Característica	Número de aspirações	Média por doadora	Desvio Padrão	Número mínimo de oócitos observados	Número máximo de oócitos observados
Gir	Oócitos totais	207	25,28	13,22	2	80
	Oócitos não viáveis	208	3,98	2,90	0	16
	Oócitos viáveis	207	21,31	11,94	2	64
	Grau I	208	2,24	3,36	0	15
	Grau II	207	9,26	6,73	0	32
	Grau III	208	9,80	6,29	0	33
	% de viáveis após CIV	206	21,99	11,99	1	71
Girolando	Oócitos totais	433	32,30	14,51	5	78
	Oócitos não viáveis	432	4,97	3,60	0	17
	Oócitos viáveis	433	26,91	12,37	3	70
	Grau I	432	3,53	3,90	0	18
	Grau II	437	12,26	7,51	0	36
	Grau III	437	11,06	7,09	0	33
	% de viáveis após CIV	434	28,15	13,72	3	74

De acordo com Borges Filho (2018), a aspiração folicular é uma prática realizada com diversas raças de bovinos. A quantidade de oócitos recuperados nessa técnica está associada à raça do animal, assim como o desempenho destes no processo de PIV.

A média de oócitos totais recuperados por doadora após a OPU deste estudo foi de $25,28 \pm 13,22$ para doadoras da raça Gir. Próximo ao resultado aqui exposto, Sales et al. (2015), que avaliaram a diferença de produção e qualidade oocitária entre fêmeas *Bos indicus* (representadas pelas Gir) e *Bos taurus* (representadas pelas Holandesas) alimentadas com

dietas de manutenção e com maiores níveis de energia, relataram para as fêmeas Gir um total de oócitos igual a $22,8 \pm 1,5$.

Ferreira (2011) obteve como recuperação média $31,19 \pm 16,49$ oócitos, não fazendo uso de superovulação nas vacas Gir doadoras. Já Miquelanti et al. (2018), ao utilizarem fêmeas lactantes sem indução hormonal, observaram um valor médio de $17,5 \pm 11,3$ de oócitos recuperados em fêmeas Gir. Este índice foi relativamente menor ao verificado no presente estudo, que pode estar relacionado a diferença do manejo empregado.

Quanto às fêmeas da raça Girolando, a média de oócitos totais recuperados por doadora foi de $32,30 \pm 14,51$. Este valor foi semelhante ao encontrado por Pontes et al. (2010), que demonstraram em sua pesquisa fêmeas meio sangue Girolando apresentando $31,4 \pm 5,6$ oócitos totais. Isso demonstra o melhor desempenho das fêmeas mestiças quando comparadas às Gir. Em concordância com este fato, Miquelanti et al. (2018) também apuraram que o número de oócitos recuperados de vacas Gir foi inferior ao total recuperado de fêmeas da raça Girolando. No entanto, Grazia et al. (2016), ao trabalharem com fêmeas Girolando F1, obtiveram um valor pouco menor. Observando como resultado médio para essas doadoras $18,14 \pm 1,33$ oócitos totais recuperados por meio da OPU.

Quanto à quantidade de oócitos viáveis, as fêmeas Gir apresentaram média de $21,31 \pm 11,94$. Este valor concorda com Ferreira (2011), que encontrou $20,04 \pm 10,58$ oócitos viáveis para fêmeas Gir. Em contrapartida, Pontes et al. (2010) encontraram para a mesma raça um valor bem inferior: $12,1 \pm 3,9$ oócitos viáveis.

Já as fêmeas Girolando, no que se refere aos oócitos viáveis, apresentam média de $26,91 \pm 12,37$. Pontes et al. (2010) descreveram valores bastante aproximados em sua pesquisa, onde as fêmeas meio sangue Girolando tiveram $24,3 \pm 4,7$ de oócitos viáveis. Já Silva et al. (2017) apontaram um número pouco menor, de $19,75 \pm 7,66$ oócitos viáveis em doadoras Girolando.

Com relação a qualidade dos oócitos, a raça Gir teve a maior proporção de oócitos inferiores, classificados como grau III ($9,80 \pm 6,29$). Em concordância com o exposto por Oliveira et al. (2013) que, em sua pesquisa, também obtiveram para raça Gir uma maior quantidade de oócitos grau III ($4,21 \pm 0,43$).

Enquanto isso, a raça Girolando obteve maior proporção de oócitos grau II ($12,26 \pm 7,51$). Ainda conforme o exposto na tabela 1, a raça Girolando apresentou maior quantidade de oócitos grau I, tendo $3,53 \pm 3,90$ contra $2,24 \pm 3,36$ da raça Gir. Vale ressaltar que os oócitos desse grau são considerados de qualidade superior (MIRANDA, 2010).

O número máximo de oócitos obtidos por OPU em fêmeas Gir foi 80, com o mínimo de 2 oócitos observados por aspiração. Nas fêmeas Girolando, o número máximo foi 78, contra o mínimo de cinco oócitos por OPU.

A comparação das médias e resultados da análise de variância para a taxa de recuperação de oócitos após OPU e CIV está apresentada na tabela 2.

Tabela 2. Comparação de médias e resultados da análise de variância para as taxas de recuperação de oócitos após aspiração folicular guiada por ultrassom (OPU) e cultivo *in vitro* (CIV) de doadoras das raças Gir e Girolando

Características	Raças		p-valor *	R ² **
	Médias			
	Gir	Girolando		
Oócitos totais	25,29±13,22	32,20±14,51	<0,0001***	0,07
Oócitos não viáveis	3,98±2,90	4,97±3,60	0,0017****	0,11
Oócitos viáveis	21,31±11,94	26,91±12,37	<0,0001***	0,07
Grau I	2,24±3,36	3,53±3,90	0,01****	0,08
Grau II	9,26±6,73	12,26±7,51	0,0001***	0,06
Grau III	9,80±6,29	11,06±7,09	0,0068****	0,04
% de viáveis após CIV	21,99±11,99	28,15±13,72	<0,0001***	0,06

*p-valor corresponde à probabilidade estatística. **R² corresponde ao coeficiente de determinação. ***Significativo a 1%. ****Significativo a 5%.

A comparação do desempenho das raças apontou a Girolando como detentora dos melhores resultados, exibindo valores de 32,20 ± 14,51 para oócitos totais com média de 26,91 ± 12,37 de oócitos viáveis. A literatura declara que as fêmeas de linhagens nativas da Europa têm a tendência de apresentar menores quantidades de oócitos recuperados, quando comparadas aos animais Zebu, contradizendo o presente estudo.

Isso acontece devido a quantidade superior de folículos recuperados na onda das linhagens Zebu (OLIVEIRA; SERAPIÃO; QUINTÃO, 2014).

Sales et al. (2015) confirmaram a ideia de superioridade do gado zebuino observando, para esses animais, melhores dados obtidos por análise no que se refere a quantidade e propriedades dos oócitos comparados aos aspirados em taurinos. Pontes et al. (2011) que em seu trabalho avaliaram fêmeas da raça Nelore, reforçam que o rebanho zebuino exibe uma maior quantidade de folículos menores. Esse, segundo estes autores, seria um dos motivos para a melhor taxa de recuperação de oócitos nesses animais.

Vale ressaltar que a raça Girolando apresenta uma característica que é tida como seu grande trunfo: a heterose ou vigor híbrido, onde a progênie vai aplicar fortemente as qualidades das linhagens PO utilizadas no acasalamento (GIROLANDO, 2019). Essa

propriedade é usada na modernização do avanço gênico, tendo em vista que os sucessores possuem características acima das apresentadas por seus progenitores (LEITE, 2016), apresentando seu benefício maior nos animais F1 ou 1/2 sangue (BOURCKHARDT, 2015).

Segundo Perez (2016), a produtividade oocitária possui grau de herdabilidade baixo. Sendo as características de grau baixo, as que mais obtém o retorno da heterose (GIROLANDO, 2019). Possivelmente, esse vigor híbrido repassou às fêmeas Girolando a boa produção de oócitos comum às fêmeas zebuínas (PONTES et al., 2010), permitindo que elas exibam resultados ainda melhores que as próprias Gir. Assim, a heterose é adotada como a principal explicação para o melhor desempenho das fêmeas Girolando.

A diferença entre os graus de sangue Girolando para as características avaliadas neste trabalho foi comparada e está demonstrada na tabela 3.

O teste comparativo demonstrou que existe sim diferença nos resultados observados para as características analisadas entre os diferentes graus de sangue Girolando. Não foram significativas apenas as médias das características taxas de recuperação de oócitos grau I e não viáveis.

As vacas Girolando com proporção mais elevada da genética taurina, como é o caso das 5/8, exibem uma quantidade reduzida de ondas foliculares, provocando uma também reduzida recuperação de folículos em seu ciclo reprodutivo (ZANIN, 2013). Isso corrobora com o presente estudo, onde foram observadas médias maiores para 1/4 e 3/4. No entanto, outros aspectos precisam ser levados em consideração, com probabilidade de ter interferido na eficiência de produção oocitária da fêmea bovina.

Para Miranda (2010), o recrutamento de oócitos de qualidade superior e o diâmetro dos folículos são grandezas inversamente proporcionais, o que significa dizer que folículos maiores reduzem a qualidade e o número de estruturas aspiradas.

Assim, Silva (2017) atesta que o tamanho dos folículos dominantes e ovulatórios das linhagens zebu se assemelham aos apresentados pelas raças mestiças, e são inferiores ao que é exibido pelas fêmeas taurinas.

Além disso, a aspiração de ovócitos antes do momento de distinção do folículo dominante influencia de maneira favorável as características oocitárias (PFEIFER et al., 2009), já que a presença do dominante faz iniciar o procedimento de atresia (PANSANI e BELTRAN, 2009).

Tabela 3. Comparação de médias e resultados da análise de variância para taxas de recuperação de oócitos por aspiração folicular guiada por ultrassom (OPU) e cultivo *in vitro* (CIV) de doadoras da raça Girolando em função do grau de sangue dos animais

Características	Graus de sangue Girolando					p-valor
	1/2	1/4	3/4	3/8	5/8	
Grau I	3,75±4,50	3,83±4,51	5,77±9,45	2,91±4,64	6,16±8,00	0,0541 ^{NS}
Grau II	11,48±7,69	14,85±9,63	13,18±8,13	9,50±7,44	12,67±7,11	0,0031 [*]
Grau III	10,56±7,25	13,70±8,83	10,81±7,12	9,50±4,85	9,67±7,24	0,0012 [*]
Oócitos não viáveis	5,20±4,36	5,60±4,39	5,77±4,31	5,91±5,07	5,41±6,54	0,8709 ^{NS}
Oócitos totais	31,00±15,42	38,00±17,65	35,55±21,57	27,83±10,36	33,93±22,63	0,0015 [*]
Oócitos viáveis	25,80±13,38	32,39±15,93	29,77±18,55	21,91±9,12	28,51±18,06	0,0005 [*]
% de viáveis após CIV	27,02±14,85	34,24±17,53	29,14±19,54	23,66±8,79	28,32±18,08	0,0004 [*]

p-valor = probabilidade estatística; NS = não significativo; *=significativo a 5%.

Ademais, outro fator pode influenciar na quantidade e qualidade de estruturas aspiradas. Conforme Sartori e Guardieiro (2010), na realidade de produção do rebanho leiteiro, é sabido que no decorrer do terço final da prenhez e terço inicial de aleitamento, a fêmea apresenta um quadro conhecido como balanço energético negativo (BEN). É quando ela gasta mais energia do que lhe é fornecida na dieta. Ainda conforme estes autores, em casos de balanço energético negativo, ocorrem alterações no aglomerado de alguns elementos sanguíneos e essas modificações podem ocasionar problemas de fertilidade e da atividade dos ovários. Também, a energia de crescimento folicular e ovulação, nesse período, é voltada para o suprimento da exigência em energia da aleitação e sustento dessa produção (LEROY et al., 2008).

Ainda, fêmeas que se encontram na fase que antecede a puberdade oferecem oócitos com diminuta capacidade de evolução. Da mesma maneira que animais idosos, que segundo descrito, exibem predisposição a ter oócitos com propriedades ínfimas (OLIVEIRA; SERAPIÃO; QUINTÃO, 2014).

Na propriedade estudada, não se pratica o descarte de doadoras por idade. O descarte é praticado apenas quando a conversão oócito-embrião é baixa ou se a fêmea apresentar alguma patologia.

Segundo Silva et al. (2011), também os meios de maturação em que os oócitos são colocados para deslocamento exercem grande influência sobre a evolução dessas estruturas nos processos seguintes da PIV, já que ajudam na capacitação dos mesmos, possibilitando estado apropriado de amadurecimento.

A análise foi significativa para regressão linear quanto ao número de oócitos não viáveis ($p < 0,05$), com grande significância ($p < 0,0001$). Sinalizando que os anos exerceram ampla influência na oscilação da quantidade de estruturas inviáveis.

A figura 1 mostra a quantidade de oócitos não viáveis de acordo com os anos, apontando que a menor proporção de oócitos inviáveis se deu em 2014.

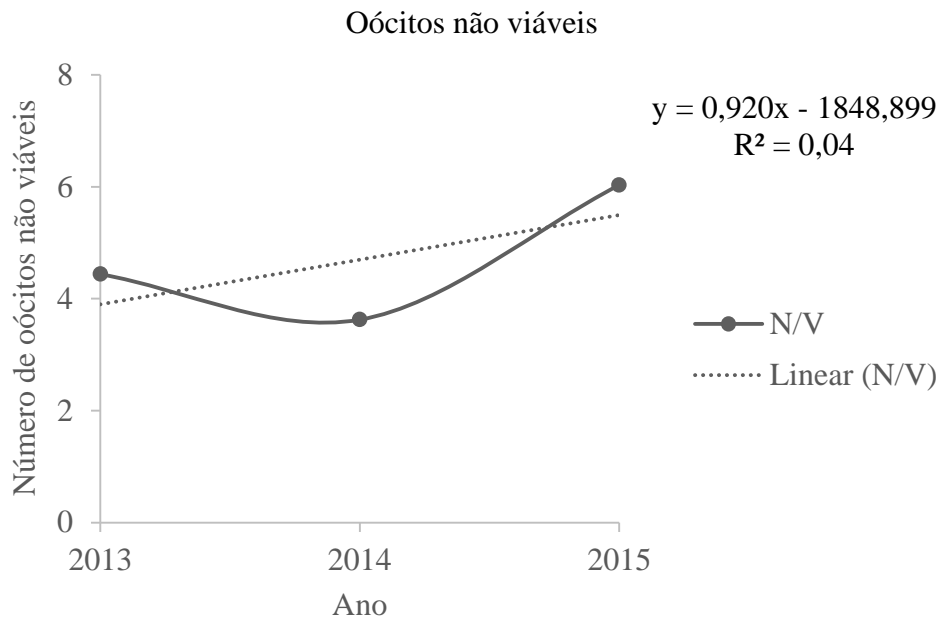


Figura 1. Taxa de oócitos não viáveis após OPU em doadoras das raças Gir e Girolando em função dos anos (2013 a 2015)

Do mesmo modo, a análise de regressão linear entre os anos e os oócitos totais foi significativa ($p < 0,05$) e está exposta na figura 2. O resultado indica crescimento da quantidade total de oócitos em função dos anos. Havendo em 2015 a maior quantidade de oócitos totais, muito embora, também nesse ano, tenha sido observado o número mais elevado de não viáveis.

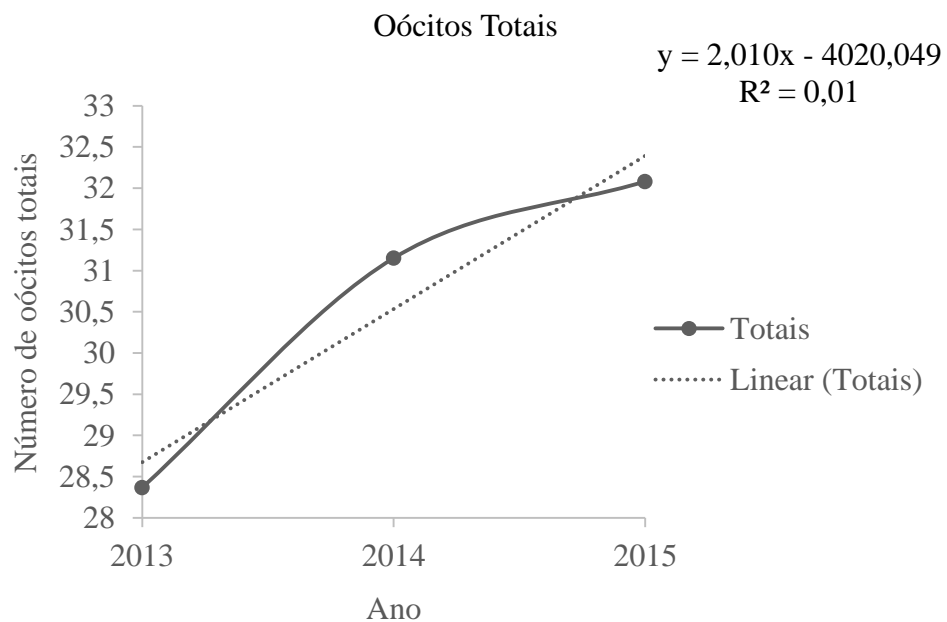


Figura 2. Taxas de oócitos totais em doadoras das raças Gir e Girolando em função dos anos (2013 a 2015)

O resultado é confirmado pela análise de correlação fenotípica realizada e que será discutida logo mais. A correlação foi positiva média para as características oócitos totais e inviáveis. Atestando desta forma, que a escolha de um animal para aumento da quantidade de oócitos produzidos implicará na elevação do número de estruturas não viáveis.

O aumento anual da quantidade de estruturas aspiradas também pode ter relação com uma melhoria na técnica aplicada. Certamente existe um aperfeiçoamento no decorrer do tempo e da prática da aspiração, aliada a uma maior experiência do profissional responsável.

Do mesmo modo, o aumento de estruturas inviáveis pode estar ligado ao treinamento de um novo aspirador. Muito provavelmente, esse treinamento ocorreu no ano de 2015, já que a partir de 2016, outro técnico passou a ser responsável pelas aspirações na propriedade analisada.

Segundo os resultados, a análise de regressão quadrática foi significativa ($p < 0,05$) para as variáveis: oócitos não viáveis e grau III, e estão expostas nas figuras 3 e 4 respectivamente, certificando que os meses exerceram influência sobre estes.

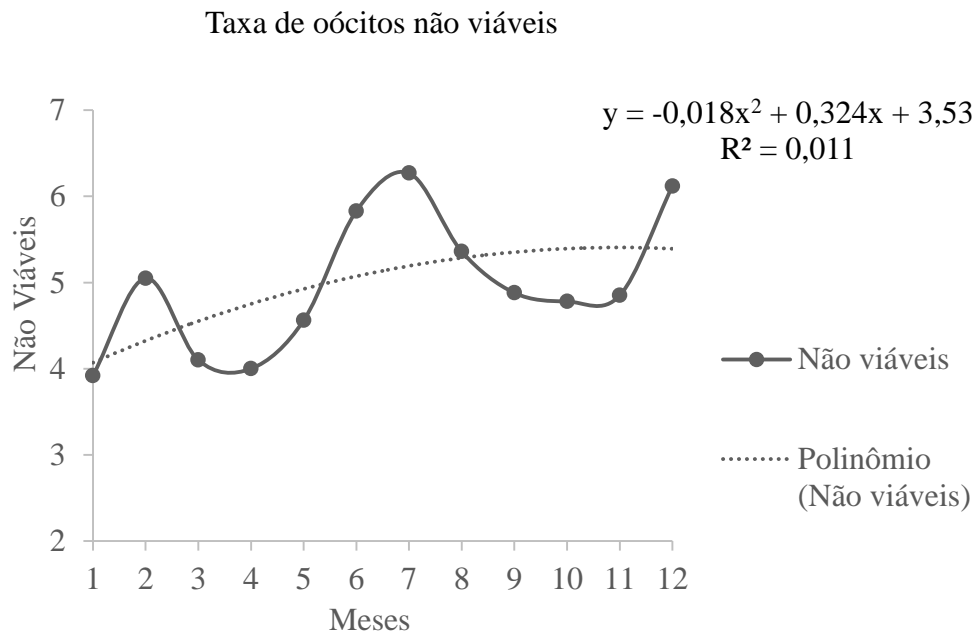


Figura 3. Taxas de oócitos não viáveis em doadoras das raças Gir e Girolando em função dos meses

Taxa de oócitos de Grau III

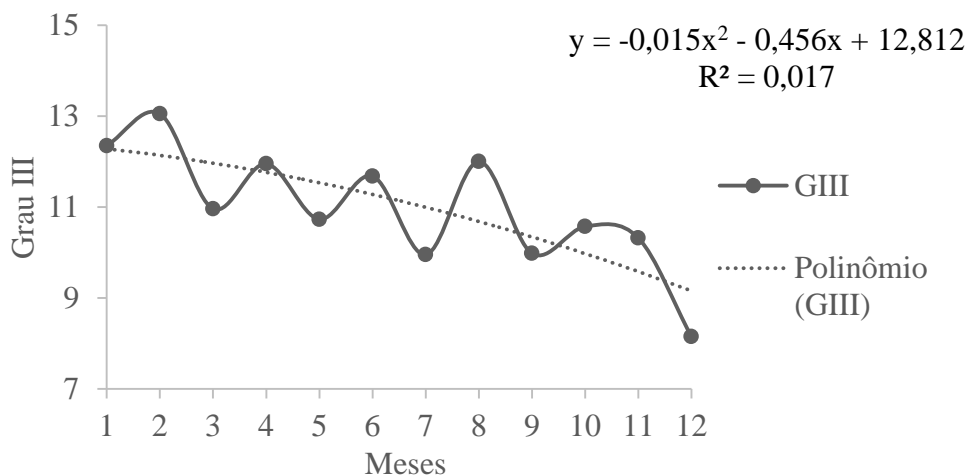


Figura 4. Taxas de oócitos grau III em doadoras das raças Gir e Girolando em função dos meses

O resultado significativo para essas variáveis pode ser explicado, de modo geral, devido à sazonalidade nos meses, em especial, pela diferença de temperatura durante as estações do ano. Segundo Roth (2008), os conhecimentos *in vivo* e em laboratório sustentam a ideia de que os oócitos de fêmeas bovinas são vulneráveis ao estresse térmico, e isso em diversas etapas da evolução folicular. Destaca também que tal transtorno nas atividades oocitárias, no decorrer do tempo de crescimento dos folículos, é capaz de diminuir a capacidade de fecundação e de progresso dos oócitos.

Para melhor compreensão do efeito dos meses sobre qualidade dos oócitos, foi elaborada uma tabela com a temperatura média dos meses dos anos analisados no trabalho.

A tabela acima demonstra as oscilações de temperatura mensal, apontadas como possível justificativa para as variações na obtenção de oócitos não viáveis e de qualidade inferior (grau III). As temperaturas oscilaram em quase todos os meses do ano, com maior discrepância entre meses pertencentes a estações diferentes.

Torres-Júnior et al. (2008), que avaliaram animais Gir, perceberam que a exposição ao estresse térmico eleva a quantidade de oócitos classificados como degenerados. Dessa forma, concluiu que quando são expostas a esse estresse por um prazo de 28 dias, há uma resposta negativa na atividade de reprodução das fêmeas. Isso ficou comprovado pela elevação da

presença de folículos maiores e diminuição do potencial de desenvolvimento oocitário, por exemplo.

Tabela 4. Temperatura média mensal aferida durante os anos de 2013, 2014 e 2015

Meses	Anos			Média mensal
	2013	2014	2015	
Janeiro	23,3°C	24,0°C	25,1°C	24,1°C
Fevereiro	23,5°C	23,8°C	23,6°C	23,6°C
Março	23,7°C	23,2°C	23,0°C	23,3°C
Abril	21,6°C	23,0°C	23,2°C	22,6°C
Maio	20,1°C	20,3°C	21,0°C	20,4°C
Junho	21,4°C	19,7°C	19,9°C	20,3°C
Julho	19,1°C	19,3°C	20,6°C	19,6°C
Agosto	20,7°C	21,4°C	21,9°C	21,3°C
Setembro	23,6°C	24,4°C	25,1°C	24,3°C
Outubro	23,9°C	25,3°C	26,9°C	25,3°C
Novembro	23,9°C	24,0°C	25,2°C	24,3°C
Dezembro	23,7°C	23,2°C	24,4°C	23,7°C
Média anual	22,3°C	22,6°C	23,3°C	22,7°C

Gendelman et al. (2010) confirmam essa ideia, afirmando que, durante o período mais frio do ano, a quantidade de folículos recrutados e de oócitos recuperados são mais elevados. Para estes autores, o estresse conduzido pelo período do ano na habilidade de evolução dos oócitos oriundos de fêmeas bovinas aparenta englobar distintos mecanismos.

Nota-se que os distúrbios causados pelo estresse térmico no período quente em relação a evolução embrionária tem ligação com a oscilação das estações. Esta oscilação influencia a manifestação dos genes comprometidos com a maturidade dos oócitos e no crescimento primário do embrião (GENDELMAN et al., 2010). Temperaturas elevadas no aparelho reprodutor das fêmeas afetam negativamente a atividade dos folículos, excreção de hormônios, os oócitos e a serventia dos embriões (PAULA-LOPES et al., 2012).

Macedo et al. (2014) ressaltam que, dentro das técnicas de propagação de genética, quando a fêmea doadora é exposta a uma perturbação térmica, ela tem predisposição de aumentar a temperatura dos oócitos e elevar a morte de embriões, causando recuperações e produções inferiores. Nesta mesma linha de raciocínio, Pavani et al. (2016) expuseram em sua publicação indicadores de que a exposição da doadora à perturbação induz um índice de clivagem atrasado. Além de causar uma redução clara da evolução embrionária no decorrer da estação quente do ano, quando comparada com a época de clima mais ameno.

Rocha et al. (2012) explicam que em reação ao estresse térmico, se elevam as fases respiratórias que, por ventura, podem causar uma repartição da corrente sanguínea para os músculos participantes do processo de respiração. Segundo os autores, esse aumento da corrente sanguínea afiliado ao sistema de regulação da temperatura corporal, diminui o tráfego de sangue para alguns locais, inclusive para o aparelho reprodutor, abrangendo com isso, os ovários.

Outra possibilidade, também relacionada ao estresse térmico, foi pontuada por Ferreira et al. (2016), que relataram uma relação entre o declínio da capacitação dos oócitos ao longo do verão com a redução do total de cópias do DNA mitocondrial nesses oócitos. Segundo este, existe descrição dessa quantidade de DNA mitocondrial ser um provável indicador de oócitos viáveis.

Gendelman e Roth (2012) propoem que as consequências estacionais lesivas ocorridas em fase de vesícula germinativa, tornem-se transferíveis para as próximas fases de evolução do embrião. E que ainda, presumivelmente, danifique a capacidade de evolução oocitária e a propriedade dos blastocistos.

Ferreira et al. (2016) afirmam que os oócitos recuperados no verão tendem a exibir distúrbio mitocondrial e tem maior probabilidade de passar por morte celular programada (apoptose), explicando que este fato pode ter ligação com a capacidade mais baixa de evolução oocitária.

É relevante saber que, assim como a perturbação causada por altas temperaturas, a tensão provocada por manuseios errôneos e inadequados das fêmeas também podem influir sobre as propriedades dos oócitos, conforme foi lembrado por Sena et al. (2018).

Interessante ressaltar que, Penitente-Filho et al. (2014) ao utilizarem o modelo de regressão linear, apuraram que a avaliação para dimensão do ovário e os oócitos de grau I foram significativas, apesar de fracas. Isso indica que o tamanho dos ovários também pode influenciar na melhor qualidade dos oócitos.

Os valores de correlações fenotípicas para as características de oócitos totais, não viáveis, viáveis, grau I, grau II, grau III e % de oócitos viáveis após cultivo *in vitro* (CIV) entre as raças Gir e Girolando são apresentados na tabela 4.

Os índices que mais se aproximaram de 1, expressaram maior força de correlação. Em contrapartida, os valores mais aproximados de zero revelaram uma correlação mais fraca (FIGUEIREDO FILHO e SILVA JÚNIOR, 2009).

Assim, foram consideradas baixas, as correlações com valores até 0,29. As que tiveram resultado entre 0,30 e 0,69 foram classificadas como médias. Correlações a partir de 0,70 foram tidas como altas.

Tabela 4. Correlações fenotípicas para as características oócitos totais, não viáveis, viáveis, grau I, grau II, grau III e % de oócitos viáveis após cultivo *in vitro* (CIV) em doadoras das raças Gir e Girolando

Recuperação de oócitos	Grau I	Grau II	Grau III	Não viáveis	Totais	Viáveis	% após CIV
Grau II	0,27*						
Grau III	-0,02 ^{NS}	0,25*					
Não viáveis	0,09*	0,21*	0,33*				
Totais	0,40*	0,74*	0,63*	0,52*			
Viáveis	0,41*	0,78*	0,63*	0,31*	0,96*		
% após CIV	0,35*	0,71*	0,62*	0,43*	0,92*	0,92*	

*Significativo a 5% de probabilidade estatística. ^{NS} Não significativo.

A correlação entre os oócitos totais e os de grau I foi positiva, também classificada como média, significando que: à medida que se seleciona animais para maior produção de oócitos, também estaremos aumentando a proporção de oócitos grau I.

Sendo esse resultado semelhante ao exposto por Ramos et al. (2006), que utilizaram o método de correlação de Pearson e também obtiveram valor médio ($r = 0,60$) para a quantidade total de oócitos e o complexo cúmulos-oócito grau I.

Ainda no que se refere ao número de oócitos totais, houveram correlações significativas médias também com os oócitos de grau III e não viáveis. Somente a correlação entre o número de estruturas totais aspiradas e a quantidade de grau II foi considerada alta ($r = 0,74$). Igualmente a este estudo, Ramos et al. (2006) que trabalharam com fêmeas Gir, obtiveram o maior resultado de correlação para a avaliação entre oócitos totais e o complexo *cumulus* grau II ($r = 0,91$).

Complementarmente, Merton et al. (2009) ao analisarem animais pertencentes à raça holandesa, encontraram correlação fenotípica quase nula entre o número de complexo *cumulus*-oócito e qualidade desse complexo, sugerindo que as boas propriedades do complexo *cumulus*-oócito não tem ligação significativa com a quantidade de estruturas aspiradas.

Assim como o total de oócitos, o número de estruturas viáveis e a % após CIV apresentaram valores de correlação positiva e média com grau I, grau III e não viáveis, com destaque para a correlação destes com os de grau II, que foi alta ($r = 0,78$ e $r = 0,71$ respectivamente). Resultado semelhante foi encontrado por Perez (2016), que obteve

correlação fenotípica média ($r = 0,64$) entre a quantidade de oócitos viáveis e a quantidade de grau I, para fêmeas Guzerá.

Ainda em análise realizada por Perez (2016), a seleção de fêmeas Guzerá pela quantidade de estruturas viáveis que elas produzem aparece como interessante alternativa para um possível programa de avanço gênico, já que essa característica apresentou correlação fenotípica alta com a quantidade de oócitos grau I e embriões viáveis.

Neste contexto, é válido ressaltar que um complexo cúmulo-oócito de características melhores dão origem a um número superior de embriões (MERTON et al., 2009). E também, a quantidade de embriões gerados pela PIV está fortemente relacionada à quantidade de oócitos coletados e mandados para esse processo (WATANABE et al., 2017).

O sucesso na execução de um plano de seleção depende, dentre outros fatores, do tipo de correlação existente entre duas características, de forma que estejamos cientes do retorno de determinada aptidão no momento em que faz-se a seleção para outra (PACHECO, 2013). Dessa forma, os resultados obtidos pela análise de correlação fenotípica nos propõem a seguinte interpretação final: a seleção de fêmeas Gir e Girolando para utilização em planos de melhoramento genético deve levar em conta a quantidade de oócitos totais produzidos por fêmea. Sendo justificada pelo fato dessa aptidão estar altamente correlacionada fenotipicamente com outras características importantes, como: oócitos grau II ($r = 0,74$), estruturas viáveis ($r = 0,96$) e % de viáveis após o cultivo *in vitro* ($r = 0,92$).

Por fim, foi observado que a raça Girolando obteve maior quantidade de oócitos recuperados, assim como maior quantidade de oócitos de melhor qualidade. Também foi comprovada a influência do grau de sangue desses animais no resultado das aspirações. Os oócitos totais e não viáveis apresentaram comportamento linear e crescente com o passar dos anos. A análise de regressão quadrática foi significativa para os oócitos de grau III e também para os não viáveis, confirmaram a influência expressiva dos meses sobre a qualidade dos oócitos aspirados. Os resultados da análise de correlação apontaram a característica oócitos totais fortemente correlacionada com oócitos grau II, viáveis e com a % de viáveis após a CIV.

CONCLUSÃO

As fêmeas Girolando apresentaram melhor desempenho para quantidade e qualidade de oócitos recuperados. Observou-se também variação entre os graus de sangue. Assim como foram superiores também na proporção de oócitos viáveis após o cultivo *in vitro*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABCGIL. **Diferencial do Gir Leiteiro**. Associação Brasileira de Criadores de Gir Leiteiro. 2015. Disponível em: <http://girleiteiro.org.br/?conteudo,151>. Acessado em: 29/01/2019
- ANDRADE, G. A. et al. Fatores que afetam a taxa de prenhez de receptoras de embriões bovinos produzidos *in vitro*. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 36, p. 66-69, 2012.
- BOLS, P. E. J. et al. High throughput non-invasive oocyte quality assessment: the search continues. **Animal Reproduction**, v. 9, p. 420-25, 2012.
- BORGES FILHO, G. N. **Taxa de concepção e gestação de embriões produzidos *in vitro*, transferidos a fresco ou criopreservado, em vacas e novilhas Nelore**. 2018. 46f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- BOURCKHARDT, V. C. **Análise produtiva de diferentes grupos genéticos de vacas leiteiras**. 2015. 35f. Trabalho de Conclusão de Curso (Zootecnia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.
- BUENO, A. P.; BELTRAN, M. P. Produção *in vitro* de embriões bovinos. **Revista Científica Eletônica de Medicina Veterinária**, v. 6, p. 1-7, 2008.
- FERREIRA, M. B. D. **Obtenção de oócitos e produção *in vitro* de embriões em doadoras lactantes da raça Gir (*Bos taurus indicus*)**. 2011. 176f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- FERREIRA, R. M. et al. The infertility of repeat-breeder cows during summer is associated with decreased mitochondrial DNA and increased expression of mitochondrial and apoptotic genes in oocytes. **Biology of Reproduction**, v. 94, p. 1-10, 2016.
- FIALHO, A. L. L. et al. Efeito do estresse térmico calórico agudo e crônico sobre a qualidade oocitária de bovinos de raças adaptadas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 70, p. 64-72, 2018.
- FIGUEIREDO FILHO, D. B.; SILVA JÚNIOR, J. A. da. Desvendando os Mistérios do Coeficiente de Correlação de Pearson (r)*. **Revista Política Hoje**, v. 18, p. 1-32. 2009.

GENDELMAN, M. et al. Seasonal effects on gene expression, cleavage timing, and developmental competence of bovine preimplantation embryos. **Reproduction**, v. 140, p. 73-82, 2010.

GENDELMAN, M.; ROTH, Z. Seasonal effect on germinal vesicle-stage bovine oocytes is further expressed by alterations in transcript levels in the developing embryos associated with reduced developmental competence. **Biology of reproduction**, v. 86, p. 1-10, 2012.

GIROLANDO. Associação Brasileira dos Criadores de Girolando. **Girolando: Generalidades**. 2019. Disponível em: <http://www.girolando.com.br/index.php?paginasSite/girolando,2.pt>. Acessado em 20/02/2019.

GRÁZIA, J. G. V. et al. Desempenho de doadoras leiteiras mestiças F1 (Gir x Holandês) no sistema de produção *in vitro* de embriões. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 68, p. 605-610, 2016.

LEEUW, A. M. V. W de. Ovum pick up and *in vitro* production in the bovine after use in several generations: a 2005 status. **Theriogenology**, v. 65, p. 914-925, 2006.

LEITE, M. B. **Desempenho produtivo e reprodutivo de grupos genéticos da raça Girolando**. 2016. 34 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.

LEROY, J. L. M. R. et al. Reduced Fertility in High - yielding Dairy Cows: Are the Oocyte and Embryo in Danger? Part I e Importance of Negative Energy Balance and Altered Corpus Luteum Function to the Reduction of Oocyte and Embryo Quality in High - yielding Dairy Cows*. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 43, p. 612-622, 2008.

MACEDO, G. G. et al. O estresse por calor diminui a fertilidade de fêmeas bovinas por afetar o desenvolvimento oocitário e o embrionário. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 38, p. 80-85, 2014.

MERTON, J. S. et al. Genetic parameters for oocyte number and embryo production within a bovine ovum pick-up *in vitro* production embryo-production program. **Theriogenology**, v. 72, p. 885-893, 2009.

MIQUELANTI, V. H. et al. A interferência da produção de leite nas taxas de recuperação oocitária e conversão em embriões de doadoras das raças Gir e meio sangue. **Archives of Veterinary Science**, v. 23, p. 27-36, 2018.

MIRANDA, R. C. A. de. **Efeitos do intervalo entre aspirações foliculares na qualidade de oócitos bovinos da raça Gir**. 2010. 51f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) - Centro Universitário de Formiga, Formiga.

MIYAUCHI, T. M. **Protocolos hormonais de preparação de doadoras bovinas para produção de embriões *in vitro***. 2011. 64f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade José do Rosário Vellano, Alfenas.

OLIVEIRA, C. S. et al. Produção *in vitro* de embriões bovinos F1 a partir de doadoras de oócitos da raça Gir Leiteiro e Holandesa. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO ANIMAL, 10., 2013, Uberaba. **Anais...** Uberaba: Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal, 2013. Disponível em: <http://girleiteiro.org.br/arquivos/1821.pdf>. Acessado em: 20/02/2019.

OLIVEIRA, E. R. de. **Avaliação do potencial de recuperação oocitária, produção de embrião e gestação em doadoras da raça Gir**. 2011. 51 f. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) - Universidade José do Rosário Vellano, Alfenas.

OLIVEIRA, C. S.; SARAPIÃO, R. V.; QUINTÃO, C. C. R. **Biotécnicas da Reprodução em Bovinos**. Embrapa Gado de Leite - Documentos 175, Juiz de Fora, MG, 2014. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/117843/1/Cnpgl-2014-DOC-175-Biotecnicas-Repr-Bovinos.pdf>. Acesso em: 27/02/2019.

PACHECO, S. M. F. **Estudo de alguns índices reprodutivos em vacaria de bovinos leiteiros**. 2013. 78f. Dissertação (Mestrado em Engenharia zootécnica - produção animal) - Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa.

PANSANI, M. A.; BELTRAN, M. P. Anatomia e fisiologia do aparelho reprodutor de fêmeas bovinas. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, n. 12, 2009.

PAULA-LOPES, F. F. de P. et al. Alterações induzidas pelo estresse térmico em oócitos bovinos: aspectos funcionais e celulares. **Reprodução Animal**, v. 9, p. 395-403, 2012.

PAVANI, K. C. et al. Gene expression, oocyte nuclear maturation and developmental competence of bovine oocytes and embryos produced after *in vivo* and *in vitro* heat shock. **Zygote**, v. 24, p.7 48-759, 2016.

PFEIFER, L. F. M. et al. Effect of circulating progesterone on *in vitro* developmental competence of bovine oocytes. **Animal Reproduction**, v. 6, p. 473-480, 2009.

PEREZ, B da C. **Análise genética da produção *in vitro* de embriões em bovinos Guzerá**. 2016. 125f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade de São Paulo, Pirassununga.

PENITENTE-FILHO, J. M. et al. Influence of corpus luteum and ovarian volume on the number and quality of bovine oocytes. **Animal Science Journal**, v. 86, p. 148-152, 2014.

PONTES, J. H. F. et al. Large-scale *in vitro* embryo production and pregnancy rates from *Bos taurus*, *Bos indicus*, and *indicus-taurus* dairy cows using. **Theriogenology**, v. 74, p. 1349-1355, 2010.

PONTES, J. H. F. et al. Ovum pick up, *in vitro* embryo production, and pregnancy rates from a large-scale commercial program using Nelore cattle (*Bos indicus*) donors. **Theriogenology**, v. 75, p. 1640-1646, 2011.

RAMOS, A. A. et al. Protocolos de produção *in vitro* de embriões na raça Gir. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, p. 341-347, 2006.

ROCHA, D. R. et al. Impacto do estresse térmico na reprodução da fêmea bovina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 36, p. 18-24, 2012.

ROTH, Z. Heat stress, the follicle, and its enclosed oocyte: mechanisms and potential strategies to improve fertility in dairy cows. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 43, p. 238-244, 2008.

SALES, J. N de S. et al. Effects of a high-energy diet on oocyte quality and *in vitro* embryo production in *Bos indicus* and *Bos taurus* cows. **Journal of Dairy Science**, v. 98, p. 3086-3099, 2015.

SARTORI, R.; GUARDIEIRO, M. M. Fatores nutricionais associados à reprodução da fêmea bovina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 422-432, 2010.

SAS Institute. **SAS statistical software**: Release 9.2, Cary, NC: SAS Institute, 2008.

SENA, L. M. et al. Influência das endometrites nas estruturas ovarianas e qualidade oocitária em tratos reprodutivos *post-mortem* de vacas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 42, p. 65-69, 2018.

SILVA, B. L. et al. Avaliação de taxa de recuperação de oócitos em programas de OPU comercial. In: 26° ENCONTRO ANUAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 2017, Umuarama. **Anais...** Umuarama: 6° Encontro Anual de Iniciação Científica Júnior, 2017. p.1-4. Disponível em: <http://www.eaic.uem.br/eaic2017/anais/artigos/2259.pdf>. Acessado em: 04/03/2019.

SILVA, S. C. e. **Dinâmica folicular e qualidade de embriões de novilhas Girolando submetidas a protocolos de inseminação artificial em tempo fixo**. 2017. 56f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

SILVA, L. K. X. et al. Transporte de oócitos bovinos em meio de maturação por diferentes períodos de tempo sem controle da atmosfera gasosa. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, p. 74-80, 2011.

SILVA, M. V. G. B. da et al. **Programa de melhoramento genético da raça Girolando: teste de progênie: Sumário de Touros 2010**. Embrapa Gado de Leite - Documentos 139 (INFOTECA-E), Juiz de Fora, MG, 2010. Disponível em: <https://core.ac.uk/download/pdf/15435971.pdf>. Acessado em: 28/01/2019.

SIMÃO, L. M.; CARVALHO, R. R de. **Seleção de oócitos**. Apostila de treinamento In Vitro. 2013.

TORRES-JÚNIOR, J. R de S. et al. Effect of maternal heat-stress on follicular growth and oocyte competence in *Bos indicus* cattle. **Theriogenology**, v. 69, p. 155-166, 2008.

VARAGO, F. C.; MENDONÇA, L. F.; LAGARES, M. de A. Produção *in vitro* de embriões bovinos: estado da arte e perspectiva de uma técnica em constante evolução. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 32, p. 100-109, 2008.

VIANA, J. H. M. A produção de embriões bovinos em 2017. **Jornal o embrião**, v. 62, p. 6-33, 2018.

WATANABE, Y. F. et al. Number of oocytes retrieved per donor during OPU and its relationship with *in vitro* embryo production and field fertility following embryo transfer. **Animal Reproduction**, v. 14, p. 635-644, 2017.

ZANIN, R. **Eficiência da produção de embriões *in vitro* através de aspiração folicular transvaginal em bovinos das raças Girolando, Brangus e Nelore**. 2013. 60f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo, São Paulo.