



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

TRABALHO DE CURSO

TAXA DE RECUPERAÇÃO DE OÓCITOS DE DOADORAS HOLANDESAS

RAFAELA CRISTINA OLIVEIRA DE SOUZA
Orientadora:
Prof.^a Dr.^a Aline Sousa Camargos

MORRINHOS
2023



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

RAFAELA CRISTINA OLIVEIRA DE SOUZA

TAXA DE RECUPERAÇÃO DE OÓCITOS DE DOADORAS HOLANDESAS

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:
Prof.^a Dr.^a Aline Sousa Camargos

MORRINHOS
2023

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

S729t Souza, Rafaela Cristina Oliveira
TAXA DE RECUPERAÇÃO DE OÓCITOS DE DOADORAS
HOLANDESAS / Rafaela Cristina Oliveira Souza;
orientador Aline Sousa Camargos. -- Morrinhos, 2023.
20 p.

TCC (Graduação em Zootecnia) -- Instituto Federal
Goiano, Campus Morrinhos, 2023.

1. Aspiração folicular. 2. Maturação in vitro. 3.
bovinos. I. Sousa Camargos, Aline , orient. II.
Título.

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, de 19 de fevereiro de 1998, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano a disponibilizar gratuitamente o documento em formato digital no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, 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 (doutorado) | <input type="checkbox"/> Artigo científico |
| <input type="checkbox"/> Dissertação (mestrado) | <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 |

Produto técnico e educacional - Tipo:

Nome completo do autor:

Rafaela Cristina Divesa de Souza

Matrícula:

2015104201830278

Título do trabalho:

Taxa de recuperação de ossos de doadores holandeses

RESTRIÇÕES DE ACESSO AO DOCUMENTO

Documento confidencial: Não Sim, justifique:

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: 18 / 08 / 2023

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;
- Que obteve autorização de quaisquer materiais incluídos no documento do qual não detém os direitos de autoria, 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;
- Que 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.

Ulucentos GO
Local

18 / 08 / 2023
Data

Rafaela Cristina Divesa de Souza
Assinatura do autor e/ou detentor dos direitos autorais

Ciente e de acordo:

[Assinatura]
Assinatura do(a) orientador(a)



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

Ata nº 11/2023 - GEXT-MO/CMPMHOS/IFGOIANO

ATA DE DEFESA DO TRABALHO DE CURSO

Aos 10 dias do mês de agosto de 2023, às 15:30 horas (quinze horas e trinta minutos), reuniu-se os componentes da Banca Examinadora, Dra. Aline Sousa Camargos orientadora, MSc. Crislaine Messias de Souza, primeiro membro da banca, MSc. Allan Rodrigues da Costa, segundo membro da banca, sob presidência da primeira, nas dependências do Instituto Federal Goiano - campus Morrinhos, em sessão pública, para defesa do trabalho de curso (TC) intitulado: Taxa de recuperação de oócitos de doadoras holandesas do(a) aluno(a) Rafaela Cristina Souza, sob a orientação do(a) professor(a) Aline Sousa Camargos do Curso Bacharelado em Zootecnia. Tendo em vista as normas que regulamentam o Trabalho de Curso e procedidas as recomendações, a discente foi considerada aprovada com ressalvas, com a nota **8,5 (oito vírgula cinco)**, considerando-se integralmente cumprido este requisito quando o aluno entregar a versão final corrigida, para fins de obtenção do título de Bacharel em Zootecnia. Nada mais havendo a tratar, eu, Aline Sousa Camargos, lavrei a presente ata que, após lida e aprovada, segue assinada por seus integrantes.

Morrinhos, 10 de agosto de 2023.

(Assinado Eletronicamente)

Aline Sousa Camargos

Orientador(a)

(Assinado Eletronicamente)

Crislaine Messias de Souza

Membro

(Assinado Eletronicamente)

Allan Rodrigues da Costa

Membro

Observação:

() O(a) estudante não compareceu à defesa do TC.

Documento assinado eletronicamente por:

- Allan Rodrigues da Costa, MEDICO VETERINARIO, em 11/08/2023 14:13:52.
- Crislaine Messias de Souza, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 11/08/2023 14:04:22.
- Aline Sousa Camargos, GERENTE - CD0004 - GEXT-MO, em 11/08/2023 13:41:27.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 11/08/2023. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 520399

Código de Autenticação: 4722b6a5d8



INSTITUTO FEDERAL GOIANO
Campus Morrinhos
Rodovia BR-153, Km 633, Zona Rural, SN, Zona Rural, MORRINHOS / GO, CEP 75650-000
(64) 3413-7900

RAFAELA CRISTINA OLIVEIRA DE SOUZA

TAXA DE RECUPERAÇÃO DE OÓCITOS DE DOADORAS HOLANDESAS

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:
Prof.^a Dr.^a Aline Sousa Camargos

APROVADA:

Msc. Allan Rodrigues da Costa
(Membro da banca)

Msc. Crislaine Messias de Souza
(Membro da banca)

Prof.^a Dr.^a Aline Sousa Camargos
(Orientadora)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao Pai celestial, por me proporcionar sabedoria e saúde para concluir este trabalho. Meus sinceros agradecimentos à minha orientadora Aline Sousa Camargos pela oportunidade, paciência, opiniões e pelos valiosos ensinamentos.

As minhas amigas Ana Paula Alves, Eduarda Gonçalves, Isadora Santos e Julyanna Yamyle, que me deram total apoio durante essa etapa final.

Agradeço ao Instituto Federal Goiano – Campus Morrinhos e todos os professores que tive ao longo dessa jornada, por todos os ensinamentos e experiências vividas que contribuíram para minha formação acadêmica, me tornando uma profissional.

Agradeço também a toda minha família, em especial à minha mãe Maria e à minha Avó Josefa, que estiveram ao meu lado desde o início da minha graduação.

Saiba que, onde quer que você esteja na vida, neste instante, é ao mesmo tempo temporário e exatamente onde você deveria estar. Você chegou a esse momento para aprender o que precisa aprender, para que possa se tornar a pessoa que precisa ser, para criar tudo que jamais desejou para sua vida. Muito Obrigada!

ÍNDICE

| | |
|----------------------------|----|
| RESUMO | 6 |
| ABSTRACT | 7 |
| INTRODUÇÃO | 8 |
| MATERIAL E MÉTODOS | 10 |
| RESULTADOS E DISCUSSÃO | 11 |
| CONCLUSÃO | 17 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 18 |

RESUMO

SOUZA, Rafaela Cristina Oliveira de, Instituto Federal Goiano - Campus Morrinhos, agosto de 2023. **Taxa de recuperação de oócitos de doadoras Holandesas**. Orientadora: Aline Sousa Camargos.

O Brasil é detentor de um dos maiores rebanhos comerciais de bovinos do mundo. A produção *in vitro* de embriões demonstra uma alta importância em meio às técnicas reprodutivas voltadas para produção leiteira brasileira, especialmente para fêmeas das raças Gir e Holandesa. Este estudo objetivou avaliar a performance de matrizes holandesas como doadoras de oócitos após a aspiração folicular guiada por ultrassom (*ovum pick up* – OPU), pelas taxas de recuperação de oócitos e maturação *in vitro* (MIV). Foi realizado um levantamento de dados das aspirações foliculares guiadas por ultrassom e MIV de oócitos oriundos de doadoras da raça holandesa durante o ano de 2015. Foram acompanhadas 272 aspirações foliculares, com intervalos de 15 dias, guiadas por ultrassom. As características analisadas foram: número de oócitos totais após a aspiração, número de oócitos viáveis e não viáveis após a aspiração, número de oócitos de graus I, II, III e % de oócitos viáveis após a maturação *in vitro* (MIV). Para as análises estatísticas, foi realizada a estatística descritiva para as características analisadas. A avaliação da significância dos efeitos (meses do ano e propriedade) foram submetidos à Análise de Variância, utilizando o procedimento PROC GLM do Statistical Analysis System. Para as comparações das médias, foi realizado o Teste de Tukey a um nível de significância a 5% ($p > 0,05$). Foram observadas, após a OPU, média de: $24,88 \pm 13,82$ para oócitos totais; $17,51 \pm 10,85$ para oócitos viáveis; $2,28 \pm 3,26$ oócitos grau I; $6,33 \pm 5,82$ oócitos grau II; $8,89 \pm 7,18$ oócitos de grau III; $7,39 \pm 4,52$ para oócitos não viáveis e $21,47 \pm 12,31$ oócitos viáveis após MIV. Houve diferença significativa entre estações do ano para taxas de recuperação de oócitos de graus I, II e não viáveis. Quando se analisa os oócitos aspirados por estação do ano, observa-se maior quantidade de oócitos de grau I recuperados no outono e primavera. No entanto, na estação verão, os mesmos apresentaram o menor índice de qualidade e o menor número de oócitos. Concluiu-se que as doadoras da raça holandesa do presente estudo apresentaram taxas de recuperação de oócitos satisfatórias.

Palavras-chave: Aspiração folicular, maturação *in vitro*, bovinos.

ABSTRACT

SOUZA, Rafaela Cristina Oliveira de, Instituto Federal Goiano - Campus Morrinhos, august de 2023. **Recovery rate of oocytes from Dutch donors**. Adviser: Aline Sousa Camargos.

Brazil has one of the largest comercial cattle herds in the world. The in vitro production of embryos demonstrates a high importance in the to the reproductive techniques used for Brazilian dairy production, especially for females of the Gir and Holstein breeds. This study aimed to evaluate the performance of Holstein breeders as oocyte donors after ultrasound-guided follicular aspiration (*ovum pick up* – OPU), by rates of oocyte retrieval and in vitro maturarion (IVM). A data collection of follicular aspirations guided by ultrasound and IVM was carried out of oocytes from Holstein donors during the year 2015. 272 were accompanied Ultrasound-guided follicular aspirations at 15-day intervals. The characteristics analyzed were: number of viable and non-viable total oocytes, number of grade I, II, III oocytes and% of viable oocytes after IVM. For statistical analysis descriptive statistic were performed for the characheristics analyzed. the assessment of the significance of the effects (months of the year and property) were submitted Analysis of Variance using the PROC GLM of the Statistical Analysis System. For comparisons of means was performed Tukey’s test at a level of significance 5% ($p>0,05$). Were observed after the mean OPU of: $24,88 \pm 13,82$ for total oocytes; $17,51 \pm 10,85$ for viable; ; $2,28 \pm 3,26$ for grade 1 and; $6,33 \pm 5,82$ for grade 2 and; $8,89 \pm 7,18$ for and grade 3; $7,39 \pm 4,52$ for non-viable oocytes; e $21,47 \pm 12,31$ for% viable after the IVM. There was a significant difference between seasons for recovery rates of grades I, II and non-viable oocytes. When analyzing the quality of oocytes aspirated by season of the year, a greater number of grade I oocytes recovered in autumh and spring was obserbed. However, in the summer season, they had the lowest quality index and the lowest number of oocytes. It was concluded that the donors of the Holstein breed of the presente study showed satisfactory oocyte retrieval rates.

Key-words: Follicular aspiration, *in vitro* maturation, cattle.

INTRODUÇÃO

O Brasil é detentor de um dos maiores rebanhos comerciais de bovinos do mundo. No mercado mundial, é o segundo maior produtor de carne bovina, ficando em primeira colocação na exportação. Por meio desses dados, pode-se destacar a importância da pecuária brasileira para a economia nacional e abastecimento de proteína de origem animal ao mundo. Mas para que isso seja possível, é necessário o trabalho árduo ligado a uma boa gestão e um bom planejamento, gerando assim bons resultados para o país (ANUALPEC, 2019).

Segundo Lamb e Mercadante (2016), ter uma alta capacidade de reprodução é um requisito primordial para se assegurar boas taxas produtivas dos animais, para que bons resultados econômicos sejam obtidos pelo produtor rural. O Brasil apresenta grande importância em relação aos avanços de pesquisas e publicações científicas voltadas na área de reprodução animal. Portanto, estas pesquisas contribuem de forma notória para a execução de novas biotécnicas no cenário atual da produção animal (BARUSELLI et al., 2018).

A utilização de biotecnologias aplicadas a reprodução de fêmeas bovinas foi desenvolvida com o intuito de difundir o melhoramento genético e aumentar a eficiência do rebanho (MELLO et al., 2016). Com tamanha evolução em relação às descobertas reprodutivas, quatro gerações de tecnologias vêm se destacando ao longo das últimas décadas. A primeira geração insere a inseminação artificial com a criopreservação de gametas e embriões. A segunda geração assimila a superovulação a transferência de embriões. A terceira geração envolve a sexagem espermática e embrionária, a recuperação de oócitos e a fertilização *in vitro*. E a quarta geração atinge a clonagem por transferência nuclear de células embrionárias ou somáticas a transgenia e a biologia de células tronco (BERTOLINI & BERTOLINI, 2009).

Conforme ressalta Mello et al. (2016), a produção *in vitro* de embriões (PIV) se dá por meio da técnica de recuperação de oócitos de fêmeas doadoras. Sendo esta técnica executada a partir de uma punção transvaginal, conduzida por meio do procedimento de ultrassonografia designada pelo método de aspiração folicular (OPU) (KRUIP et al., 1994).

Segundo Dias et al. (2015), a produção *in vitro* de embriões demonstra uma alta importância em meio às técnicas reprodutivas voltadas para produção leiteira brasileira, especialmente para fêmeas das raças Gir e Holandesa. Conforme afirmam Bertolini & Bertolini (2009), a reprodução *in vitro* é um método que demonstrou, com o passar dos anos, um apreciável rendimento, tanto em relação a seu sucesso, quanto à sua qualidade, acarretando assim melhoras significativas em relação às taxas de prenhez observadas.

A produção *in vitro* (PIV) tem se tornado o centro de atenção de inúmeras pesquisas, com o propósito de aperfeiçoar o seu uso no mercado. Em média, somente 30% dos oócitos maturados conseguem se expandir até a fase de blastocisto (FERREIRA, 2011). Conforme explicado por Gouveia (2011), este acontecimento se deve ao fato da técnica requerer um investimento inicialmente elevado. Portanto, é de suma importância que seja minimizado ao máximo suas perdas. Sendo assim, também é de fundamental importância aliar diferentes métodos, tais como a avaliação de doadoras e receptoras, diagnósticos precoces de gestação e sexagem fetal, para assim conseguir potencializar ao máximo os resultados positivos das produções *in vitro*.

Em 2017, o Brasil registrou a produção de 345.528 embriões através de OPU e 343.811 transferências e segue como referência no uso da Produção *in vitro* de embriões, respondendo por 34,8% da produção global (VIANA, 2018). Em 2018, ocorreu um aumento de 8,3% em relação aos resultados de 2017 na cadeia produtiva da pecuária brasileira, demonstrando resiliência mesmo em tempos de incerteza econômica (ABIEC, 2019).

A raça Holandesa é uma raça europeia, especializada na alta produção de leite que é bastante utilizada no mundo. Conhecida por ser a maior produtora de leite, a raça é bastante utilizada no Brasil. Sua origem é de clima frio, os animais possuem uma alta exigência quanto ao clima quente, mas apesar disso a raça é bastante utilizada como matriz em cruzamentos, com o intuito de disseminar o gene de alta produção para novas linhagens (ABCBRH HOLANDESA, 2023).

Neste contexto, este estudo objetivou avaliar as taxas de recuperação de oócitos de doadoras holandesas em diferentes estações do ano e em diferentes propriedades.

MATERIAIS E MÉTODOS

Realizou-se um levantamento de dados de aspirações foliculares guiadas por ultrassom e maturação de oócitos *in vitro*, de doadoras da raça holandesa durante o ano de 2015. Portanto, este estudo foi dispensado de avaliação pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA). Estas doadoras foram atendidas pelo Laboratório de Biotecnologia da Reprodução Samvet Embriões em Morrinhos, GO. As aspirações foliculares guiadas por ultrassom foram realizadas em duas propriedades em Morrinhos, GO, com manejos similares.

As doadoras foram mantidas a pasto, recebendo suplementação mineral e volumosa no período da seca, composta por silagem de milho acompanhada por gramínea e capim cortado. O total das aspirações foram 272 e eram realizadas com intervalo de, no mínimo, 15 dias. Ao longo dos meses de 2015, foram levantados os seguintes dados do laboratório: número de oócitos totais, oócitos viáveis, oócitos grau I, grau II, grau III, oócitos não viáveis e porcentagem de oócitos viáveis após maturação *in vitro*.

Foi realizada estatística descritiva para as características analisadas, tais como número de oócitos totais, oócitos viáveis e não viáveis após a aspiração, número de oócitos de grau I, grau II, grau III e MIV. A avaliação da significância dos efeitos (estações do ano e propriedades) foi realizada pela Análise de Variância, determinada por intermédio do software SAS[®] (SAS Institute, 2008). Utilizou-se o procedimento PROC GLM, ou método dos modelos, assumindo-se um nível de significância estatística de 5%. Para as características que apresentaram diferença estatística na Análise de Variância aplicou-se o Teste de Tukey.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A seguir, estão expostos na tabela 1, os resultados de recuperação de oócitos, o número de observações, média, desvio padrão, mínima e máxima após a aspiração e após maturação *in vitro*.

Tabela 1. Estatística descritiva para as características oócitos totais, viáveis, não viáveis, grau I, grau II, grau III e após maturação *in vitro* de doadoras da raça holandesa no ano de 2015.

| Características | Número de observações | Média | Desvio Padrão | Mínima | Máxima |
|---------------------------|-----------------------|-------|---------------|--------|--------|
| Oócitos Totais | 272 | 24,88 | 13,82 | 4 | 90 |
| Oócitos Viáveis | 272 | 17,51 | 10,85 | 1 | 64 |
| Oócitos Grau I | 272 | 2,28 | 3,26 | 0 | 23 |
| Oócitos Grau II | 272 | 6,33 | 5,82 | 0 | 30 |
| Oócitos Grau III | 272 | 8,89 | 7,18 | 0 | 48 |
| Oócitos não viáveis | 272 | 7,39 | 4,52 | 1 | 36 |
| Maturação <i>in vitro</i> | 272 | 21,47 | 12,31 | 2 | 78 |

Das 272 aspirações foliculares guiadas por ultrassom, obteve-se uma média de oócitos totais de $24,88 \pm 13,82$, para oócitos viáveis $17,51 \pm 10,85$ e para qualidade oocitária de grau I $2,28 \pm 3,26$. De acordo com Borges Filho (2018), a quantidade de oócitos recuperados está intimamente ligada à raça da doadora, assim como o desempenho no processo de PIVE. Pinho (2019) encontrou média de recuperação de oócitos viáveis por doadora holandesa de $14,6 \pm 5,0$ inferior a doadoras meio sangue da raça Girolando $35,8 \pm 1,0$ e da raça Gir $28,8 \pm 1,0$.

O procedimento de aspiração folicular influencia na recuperação oocitária, a quantidade de punções, o tipo de bomba de vácuo, a pressão utilizada, tipo de agulha, além da eficiência do técnico (LOIOLA et al., 2014). Fatores como genótipo da doadora, nutrição, idade, sanidade, sazonalidade, categoria, dentre outros podem influenciar a taxa de recuperação de oócitos bem como a transformação em embrião (MELLO et al., 2017).

Torres et al. (2015) reforçam que o fator nutricional exerce forte influência no desenvolvimento dos oócitos e impactam principalmente vacas de alta produção leiteira, como é o caso da raça holandesa. Pinho (2019) concluiu que animais de origem zebuína produzem

mais oócitos do que animais de origem taurina, e o respectivo cruzamento entre as raças obtém um grau de heterose maior.

A análise estatística descritiva da influência das estações do ano sobre as características oócitos totais, viáveis, não viáveis, de grau I, II, III e após maturação *in vitro* estão expostas na tabela 2.

Tabela 2 – Médias e Teste de Tukey avaliando influência das estações do ano para as características reprodutivas em fêmeas bovinas da raça Holandesa no ano de 2015.

| Características | Estações do ano | | | |
|---------------------------|--------------------|-------------------|--------------------|--------------------|
| | Primavera | Verão | Outono | Inverno |
| Oócitos totais | 23,91 | 24,67 | 25,80 | 25,53 |
| Oócitos viáveis | 16,28 | 19,14 | 17,57 | 17,63 |
| Oócitos grau I | 2,87 ^{ab} | 1,17 ^c | 4,02 ^a | 1,77 ^{bc} |
| Oócitos grau II | 5,20 ^b | 8,39 ^a | 5,97 ^{ab} | 6,28 ^{ab} |
| Oócitos grau III | 8,21 | 9,58 | 7,57 | 9,58 |
| Oócitos não viáveis | 7,70 ^{ab} | 5,66 ^b | 8,22 ^a | 7,89 ^a |
| Maturação <i>in vitro</i> | 20,54 | 21,50 | 21,08 | 22,41 |

*Letras iguais na mesma linha não diferem entre si. **Letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

Segundo Inmet (2023), durante o ano, ocorrem quatro estações. A estação outono que compreende de 20 de março a 21 de junho quando os dias se tornam mais curtos e frescos; inverno de 21 de junho a 22 de setembro, quando os dias são curtos e frios; a primavera de 22 de setembro a 21 de dezembro, quando os dias voltam a ser mais longos e quentes; e, por fim, o verão de 21 de dezembro a 20 de março, época mais quente do ano.

Em 272 aspirações foliculares realizadas, o fator influência das estações do ano não apresentou diferença significativa entre os oócitos totais, viáveis, de grau III e após maturação *in vitro*. O estado de maturação dos oócitos é de extrema importância para o desenvolvimento dos embriões, onde o mesmo pode ser afetado por vários elementos como o ambiente, o meio de cultivo, o método de coleta e técnicas de maturação (SUTTON et al., 2012).

Os oócitos são classificados de acordo com as características do *cumulus oophorus* (COC), tais como números de camadas, grau de compactação, coloração e uniformidade do citoplasma. De acordo com as classificações temos: Grau I – oócitos com citoplasma homogêneo e com toda superfície cercada com mais de três camadas de células do *cumulus oophorus* (COC) ; Grau II – oócitos com citoplasma homogêneo e uma ou duas camadas de

células do *cumulus oophorus* (COC); Grau III – oócitos com uma camada de células do *cumulus oophorus* (COC); Grau IV – oócitos com evidentes sinais de degeneração citoplasmática; Grau V – oócitos envolvidos por células expandidas e Grau VI – oócitos com ausência de células (DI FRANCESCO et al., 2012).

Quando se analisa a qualidade dos oócitos aspirados por estação do ano, observa-se maior quantidade de oócitos de grau I recuperados no outono e na primavera. Estações essas caracterizadas por temperaturas mais amenas, proporcionando um ambiente mais confortável para os animais (BERLING et al., 2022).

As estações outono, primavera e inverno apresentaram maior número de oócitos não viáveis, podendo ser provocados pelas alterações do desenvolvimento folicular, diminuição ou atraso do estro, comprometimento da competência oocitária dos efeitos do estresse térmico (MACEDO et al., 2014). Segundo Viana et al. (2004), vacas aspiradas com uma menor frequência possuem uma melhor eficiência na recuperação de oócitos, pelo fato de conseguirem um intervalo maior para recuperação ovariana.

A região Centro Oeste possui o clima tropical sazonal apresentando invernos secos e verões chuvosos com uma temperatura média anual de 22-23 graus celsius. Ao longo do ano, as temperaturas máximas e mínimas apresentam variações, onde a máxima pode chegar a mais de 40°C e as mínimas chegam próximo ou abaixo de 0°C (MARCUIZZO et al., 2012).

Logo, os oócitos de grau I na estação verão apresentaram o menor índice, visto que esse período é marcado por altas temperaturas. Os animais sofrem com o estresse térmico apresentando alterações fisiológicas na tentativa de manter a temperatura corporal neutra. Isso afeta diretamente a qualidade dos oócitos pois a onda de crescimento dos folículos é afetada quando são expostos ao estresse térmico (FERRO, 2011).

Ferreira et al. (2011) constataram que vacas Holandesas de alta produção apresentam menor taxa de blastocisto e maior fragmentação embrionária quando obtidos no verão. Macedo et al. (2014), concluiu que oócitos e embriões até a fase de blastocisto são muito vulneráveis ao calor, conseqüentemente o estresse pela alta temperatura afeta diretamente o avanço embrionário inicial dos mesmos.

Para os oócitos de grau II, observou-se significância na estação verão, outono e inverno. Já para os oócitos não viáveis, as estações outono, inverno e primavera apresentaram uma maior diferença significativa.

Segundo Hendriksen et al. (2004), a etapa do ciclo estral no instante da OPU é um fator que causa interferência nas taxas de recuperação e qualidade de oócitos coletados. Há relatos

de que ocorrem melhor desenvolvimento dos embriões quando a aspiração folicular é realizada próximo a emergência folicular. Quando os oócitos são extraídos no período do estágio precoce de dominância folicular, aumenta as chances de se conseguir oócitos de melhor qualidade (MACHATKOVÁ et al., 2004).

A idade da doadora é um dos fatores que podem interferir na quantidade e qualidade dos oócitos. Conforme explica Kruip et al. (1994), respostas relacionadas a regulações endocrinológicas podem influenciar o aumento e a maturação dos folículos, o que acaba interferindo diretamente na quantidade e qualidade dos oócitos, que virão a ser produzidos no processo *in vitro*.

Segundo Sales et al. (2015), entre outros motivos que podem interferir na reprodução, podemos citar também a nutrição animal. Uma vez que a nutrição possui interferência direta nas funcionalidades reprodutivas das fêmeas bovinas, principalmente em relação a produção e a qualidade dos oócitos produzidos *in vitro*. Diversos estudos apontam que a ausência de uma alimentação balanceada pode causar a redução da fertilidade, em especial em vacas leiteiras.

O gado zebuíno apresenta superioridade na quantidade e performance dos oócitos comparados aos aspirados em taurinos, relatado por Sales et al. (2015). Fêmeas zebuínas possuem uma maior quantidade de folículos menores, um dos motivos para melhor taxa de recuperação de oócitos (PONTES et al., 2011).

Na OPU, são utilizadas várias raças bovinas e a quantidade de oócitos coletados nessa técnica está correlacionada com a raça do animal (BORGES FILHO et al., 2018). Com foco na qualidade oocitária, Chagas et al. (2014) conduziram um estudo avaliando fatores anatomofisiológicos que influenciam a qualidade de complexos *cumulus oócitós (CCOs)* de fêmeas *Bos Taurus Indicus*. Diante dos resultados encontrados, demonstraram que a categoria da doadora e a progesterona não influenciam a qualidade de CCOs e que folículos menores apresentam CCOs de melhor qualidade.

Tem se demonstrado as diferenças na fisiologia reprodutiva entre as raças *Bos Taurus Taurus e Bos Taurus Indicus*. No geral, não há diferença no número de ondas foliculares no ciclo estral. No entanto, *Bos Taurus Indicus* têm maior contagem de folículos antrais que proporciona maior número de oócitos recuperados, insulina circulante e fator de crescimento a insulina (IGF1), além de apresentar maior produção de embriões, maiores percentuais de oócitos viáveis, número de blastocistos e taxa de blastocisto que *Bos taurus* (SARTORI et al., 2016).

Barbosa et al. (2013) compararam a produção de embriões através de oócitos de ovários com e sem corpo lúteo de vacas da raça Nelore, comparando a qualidade e quantidade de oócitos obtidos além da produção de embrião e taxa de prenhez e proporção dos sexos. Foi possível concluir que os oócitos dos ovários com corpo lúteo (CL) apresentaram melhores índices de produção de embriões. As vacas gestantes produziram melhor nos ovários sem corpo lúteo, com mais oócitos viáveis e iguais em embriões, em relação ao ovário com CL. Já as taxas de prenhez e proporção dos sexos foram equivalentes entre os grupos. Bols et al. (2012) observaram divergência entre as taxas de recuperação de oócitos *in vivo e post-mortem*, diferindo os dois métodos apenas na pressão do vácuo, que deve ser ajustado para cada aspiração específica.

A análise estatística dos dados para características oócitos totais, viáveis, não viáveis, de grau I, II, III e maturação *in vitro* avaliando a influência das diferentes propriedades estão expostos na tabela 3.

Tabela 3 – Médias e teste de Tukey avaliando influência de diferentes propriedades nas características reprodutivas em bovinos da raça holandesa no ano de 2015.

| Características | Propriedades | |
|---------------------------|-------------------|-------------------|
| | Propriedade 1 | Propriedade 2 |
| Oócitos totais | 23,50 | 25,33 |
| Oócitos viáveis | 17,85 | 17,40 |
| Oócitos grau I | 1,64 | 2,49 |
| Oócitos grau II | 7,28 | 6,02 |
| Oócitos grau III | 8,94 | 8,88 |
| Oócitos não viáveis | 5,85 ^b | 7,93 ^a |
| Maturação <i>in vitro</i> | 20,50 | 21,78 |

*Letras iguais na mesma linha não diferem entre si. **Letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de significância a 5%.

Foi observada diferença significativa apenas para os oócitos não viáveis, que foram mais numerosos na propriedade 2. Os fatores que determinam a eficiência da aspiração folicular e conseqüentemente a produção de embriões bovinos são vários, e cada propriedade tem seus desafios distintos podendo sobressair com resultados melhores ou piores. Neste caso, pode-se observar o maior número de oócitos não viáveis na propriedade 2, provavelmente devido aos diferentes manejos entre as propriedades.

Segundo Becher et al. (2018), o manejo nutricional e bem-estar das doadoras influencia diretamente no desempenho reprodutivo. Como as doadoras foram mantidas a pasto, pode ser que algumas ficaram mais expostas ao sol, apresentando dessa forma diferença entre as duas propriedades. Vacas da raça Gir que pastejaram em áreas sombreadas conceberam quatro vezes mais embriões nas estações mais quentes do ano. Observou-se também que as doadoras que ficaram expostas ao sombreamento natural produziram 16% mais folículos na superfície dos seus ovários, 75% a mais de oócitos totais e o número de oócitos viáveis aumentou em 81% quando comparadas as doadoras que ficaram expostas somente ao sol. Desta forma, observamos a importância de disponibilizarmos aos animais áreas com temperaturas mais amenas, para que as doadoras consigam desempenhar bons resultados reprodutivos. (EMBRAPA, 2023).

CONCLUSÃO

As doadoras da raça Holandesa acompanhadas apresentaram taxas de recuperação de oócitos satisfatórias não sendo observadas diferenças nas estações do ano para taxa de recuperação de oócitos totais, viáveis, oócitos de grau III e após maturação *in vitro*. As diferentes propriedades estudadas não deferiram, exceto na taxa de oócitos não viáveis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABCBRH HOLANDESA. **Associação Brasileira de Criadores Bovinos da Raça Holandesa**. Disponível em: < <https://www.gadoholandes.com.br/> Acessado em: 03/08/2023.

ABIEC. Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes 2019. **Perfil da pecuária no Brasil**. Disponível em: <https://abiec.com.br/wp-content/uploads/SUM%C3%81RIO-BEEF-REPORT-2020_NET-4.pdf> Acesso em: 19/05/2023.

ANUALPEC. (2019). **Anuário da Pecuária Brasileira** (Ed. 20, Vol. 1). Instituto FNP.

BARBOSA, C. P.; TONIOLLO, G. H. et al. Produção in vitro de embriões de bovinos da raça Nelore oriundos de ovócitos de ovários com e sem corpo lúteo. **Animal Brasil**, v.14, p.81-90, 2013.

BARUSELLI, P.S.; FERREIRA, R.M. et al. Timed artificial insemination: current challenges and recente advances in reproductive efficiency in beef dairy herds in Brazil. **Animal Reproduction**, v.14, p.558-571, 2018.

BECHER, B. G.; PINTO NETO, A. et al. Fatores que afetam a produção in vitro de embriões (pive) em bovinos. **Enciclopédia Biosfera**, v.15, n.28, p.554-570, 2018.

BERLING, F; CASTRO, F, C. et al. Influência do estresse calórico na produção in vitro de oócitos e embriões de vacas Holandesas de alta produtividade. **Ciência Animal Brasileira**, v.23. p. 1-8, 2022.

BERTOLINI, M.; BERTOLINI, L.R. Advances in reproductive technologies in cattle: from artificial insemination to cloning. **Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia**, v.56, p.184-194, 2009.

BOLS, P.E.J.; JORSSSEN, E.P.A 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 e fresco ou criopreservado, em vacas e novilhas Nelore**. 2018. 46f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

CHARGAS, W. M.; SILVA, M. A. V. et al. Fatores anatomofisiológicos que afetam a qualidade oocitária em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.32, p.34-38, 2014.

DIAS, L.; ROSA, P.D.S. Dinâmica folicular em doadoras de oócito das raças Gir e Holandesa mantidas em condições tropicais. In Embrapa Gado de Leite – Resumo em anais de congresso (ALICE). In: WORKSHOP DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA GADO DE LEITE, 16., 2015, Juiz de fora. **Anais...** Juiz de fora: Embrapa Gado de Leite, 2015, p.185.

DI FRANCESCO, S.; NOVO, A, M.V.S. et al. Ovum pick-up and in vitro embryo production (OPU-IVEP) in mediterranean italian buffalo performed in diferente seasons. **Theriogenology**, v.77, p.148-154, 2012.

EMBRAPA. **Agência de informação Embrapa**. Vacas que produzem na sombra produzem quatro vezes mais embriões. 2020. Disponível em: <[https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/50416485/vacas-que-pastejam-na-sombra-produzem-quatro-vezes-mais-embrioes#:~:text=Pesquisadores%20da%20Embrapa%20Cerrados%20\(DF,22%25%20a%20mais%20de%20leite](https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/50416485/vacas-que-pastejam-na-sombra-produzem-quatro-vezes-mais-embrioes#:~:text=Pesquisadores%20da%20Embrapa%20Cerrados%20(DF,22%25%20a%20mais%20de%20leite)>. Acesso em: 27/06/2023.

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, AYRES, H. et al. The low fertility of repeat-breeder cows during summer heat stress is related to a low oocyte competence to develop into blastocysts. **J Dairy Sci**, v.94, p.2383-2392, 2011.

FERRO, D. A. C. Efeitos dos elementos climáticos na produção e reprodução de vacas leiteiras. 2011. 13f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) Universidade Federal de Goiás.

GOUVEIA, F.F. **A produção in vitro de embriões bovinos**. 2011. 11f. Trabalho de Conclusão de Curso - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília.

HENDRISEN, P.J.M.; STEENWENG, W.N.M. et al. Effect of diferente stages of follicular wave on in vitro developmental competence of bovine oocytes. **Theriogenology**, v.61, p. 909-920. 2004.

INMET, Instituto Nacional de Meteorologia, **Estação do ano**. Disponível em:<<https://portal.inmet.gov.br/estacoes>>. Acesso em: 03/05/2023.

KRUIP, T.A.; BONI, R et al. Potential use of ovum pick-up for embryo production and breeding in cattle. **Theriogenology**, v.42, p.675-684, 1994.

LAMB, G.C.; MERCADANTE, V.R.G. Synchronization and artificial insemination strategies in beef cattle. **Veterinary clinics: Food Animal Practice**, v.32, p.334-335, 2016.

LOIOLA, M. V. G.; CHALHOUB, M. et al. Validação de um programa de produção *in vitro* de embriões bovinos com transporte de oócitos e de embriões por longas distâncias. **Ciência Animal Brasileira**, v.15, p.93-101, 2014.

MACEDO, G. G.; SILVA, E. V. 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.

MACHATKOVÁ, M.; KRAUSOVA, K. et al. Developmental competence of bovine oocytes: effects of follicle size and phase follicular wave on embryo production. **Theriogenology**, v.61, p.329-225, 2004.

MARCUZZO, F. F. N.; CARDOSO, M. R. D. et al. Chuvas no cerrado da região Centro-Oeste do Brasil: análise histórica e tendência futura. **Ateliê geográfico**, v6, n.2, p. 112-130, 2012.

MELLO, C. R. R.; FERREIRA, R.J. et al. Produção *in vitro* (PIV) de embriões em bovinos. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v.40, p.58-64, 2016.

MELLO, R. R. C.; et al. Produção *in vitro* (PIV) de embriões em bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 40, n. 2, p. 58-64, 2017.

PINHO, G. A. S. **Índices de recuperação de oócitos e produção de embriões por fecundação *in vitro* nas raças Gir leiteiro, Holandês e Girolando**. 2019. 11f. Trabalho de conclusão de Curso (Medicina Veterinária) – UNICEPLAC, Gama.

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.

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**, v98, p. 3086-3099, 2015.

SALES, J.N.S.; IGUMA, L.T. et al. Effects of a high-energy diet on oocyte quality and *in vitro* embryo production in *Bos indicus* and *Bos taurus* cown. **Journal of Dairy Science**, v98, p. 1-14, 2015.

SARTORI, R.; GIMENES, U. L. et al. Metabolic and endocrine differences between. *Bos taurus* and *Bos indicus* females that impact the interaction of nutrition with reproduction. **Theriogenology**, v.86, p.3240, 2016.

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

SUTTON-MCDOALL, M.L.; FEIL, D. et al. Utilization of endogenous fatty acid stores for energy production in bovine preimplantation embryos. **Theriogenology**, v.77, 1632-1641. 2012.

VIANA, J. H. M., DE ALMEIDA CAMARGO, L. S., DE MORAES FERREIRA, A. et al. Short intervals between ultrasonographically guided follicle aspiration improve oocyte quality but do not prevent establishment of dominant follicles in the Gir breed (*Bos indicus*) of cattle. **Animal Reproduction Science**, v.84, p.1-12, 2004.

VIANA, J. H. M. Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals: Is it a turning point? In 2017 more *in vitro*-produced than *in vivo*-derived embryos were transferred worldwide. **Embryo Transfer Newsl**, v.36(4), p.8-25, 2018.

TORRES, H. A. L; TINEO, J. S. A; RAIDAN, F. S. S. **Influência do escore de condição corporal na probabilidade de prenhez em ovinos de corte**. Archivos de Zootecnia. v.65, p.255-260. 2015.