



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL GOIANO
CAMPUS URUTAÍ
GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

RELATÓRIO DE ESTÁGIO CURRICULAR SUPERVISIONADO

Reprodução de Bovinos

Aluno (a): Helena Ferreira de Oliveira

Orientador (a): Wesley José de Souza

URUTAÍ
2024

HELENA FERREIRA DE OLIVEIRA

RELATÓRIO DE ESTÁGIO CURRICULAR SUPERVISIONADO

Reprodução de Bovinos

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Medicina Veterinária do Instituto Federal Goiano – Campus Urutaí como parte dos requisitos para conclusão do curso de graduação em Medicina Veterinária.

Orientador (a): Wesley José de Souza
Supervisor (a): Márcia Carneiro de Sousa Silveira

URUTAÍ

2024

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

DD418r De Oliveira, Helena Ferreira
Relação da taxa de prenhez com o estágio de desenvolvimento do embrião inovulado / Helena Ferreira De Oliveira; orientador Wesley José De Souza. -- Urutaí, 2024.
33 p.

TCC (Graduação em Medicina Veterinária) --
Instituto Federal Goiano, Campus Urutaí, 2024.

1. transferência. 2. blastocisto . 3. receptora.
4. embrionário . 5. endométrio. I. De Souza, Wesley José , 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:
Helena Ferreira de Oliveira

Matrícula:
2019101202240413

Título do trabalho:

Relação da taxa de prenhez com o estágio de desenvolvimento do embrião inovulado

RESTRICÇÕES DE ACESSO AO DOCUMENTO

Documento confidencial: Não Sim, justifique:

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: 05 /03 /2024

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 inclusos 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.

Urutaí

05 /03 /2024

Local

Data

Helena Ferreira de Oliveira

Assinatura do autor e/ou detentor dos direitos autorais

Ciente e de acordo:

Wully Fox de Souza

Assinatura do(a) orientador(a)



ATA DE APROVAÇÃO DE TRABALHO DE CURSO

As 15 horas do dia 09 de Maço de 2024, reuniu-se na sala nº 041 do Prédio de Medicina Veterinária do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Urutaí, a Banca Examinadora do Trabalho de Curso intitulado "Relação da taxa de presença com o estágio de desenvolvimento do embrião incubado"

composta pelos professores Carla Cristine Brogheury, Maria Alice Pires Moura e Wesley Pinheiro de Souza

para a sessão de defesa pública do citado trabalho, requisito parcial para a obtenção do Grau de **Bacharelado em Medicina Veterinária**. Para fins de comprovação, o aluno (a) Helena Ferreira de Oliveira foi considerado (APROVADO ou NÃO APROVADO), por unanimidade, pelos membros da Banca Examinadora.

Assinatura dos membros da Banca Examinadora	Situação (Aprovado ou Não Aprovado)
1. <u>Wesley Pinheiro de Souza</u>	<u>Aprovado</u>
2. <u>Carla Cristine Brogheury</u>	<u>Aprovado</u>
3. <u>Maria Alice Pires Moura</u>	<u>Aprovado</u>

Urutaí-GO, 09 de Maço de 2024.



AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço infinitamente a Deus e a Nossa Senhora Aparecida, pela minha vida, pelo amparo, por sempre protegerem e abençoarem o meu caminho e acima de tudo, por me concederem saúde para que pudesse correr atrás dos meus objetivos.

Aos meus pais, Márcia e Vanderli, por nunca medirem esforços para que eu pudesse concluir a graduação que tanto almejei em toda a minha vida, por serem meu esteio e por sempre me incentivar a seguir em frente. Aos meus irmãos, Dayane, Deyvid e Débora, por acreditarem em mim e por sempre estarem ao meu lado. Aos meus cunhados, Anabio, Farley e Kerolayne, por todo apoio concedido.

Minha profunda gratidão a todo o corpo docente do Instituto Federal Goiano – Campus Urutaí, por dedicarem tempo e sabedoria ao nos repassarem seus conhecimentos e experiências. Em especial ao M.V. Dr. Wesley José de Souza pela orientação e amizade em todos esses anos que passamos juntos.

Agradeço a minhas amigas, Bárbara, Emannuely e Nathallya, que sempre estiveram ao meu lado, pelo suporte e amizade incondicional. E aos meus colegas de faculdade, Bruno Pereira, Daniele Cassiano, Gustavo Ribeiro, Larissa Pereira e Sofia Canedo, que tornaram esta jornada mais leve.

O meu muito obrigada a todos veterinários que tive a honra de acompanhar e aprender com cada um. Particularmente ao M.V. André Faleiro que muito me ensinou e sempre se dispôs a me ajudar.

Por fim, sou imensamente grata a toda equipe Fertilife. Especialmente a M.V. Márcia Carneiro e a M.V. Lúcia Mundim, por abrirem as portas de sua empresa e por toda paciência e dedicação. Ao M.V. Felipe Carneiro, a Zootec. Flávia Evangelista, a M.V. Islla Chaves e ao Wender Lorencine, que acreditaram na minha capacidade e potencial, por todo carinho e amizade.

Muito obrigada.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1

Figura 1 - Mesa para OPU. Círculo amarelo: bomba a vácuo	10
Figura 2 – Imagem ultrassonográfica de um ovário com folículos	11
Figura 3 – Guias para Aspiração Folicular. Seta vermelha: Guia para Aspiração de Vacas	11
Figura 4 – Rastreamento de oócitos	13
Figura 5 – Oócitos Viáveis. Seta Azul: Grau I; seta rosa: Grau II; seta verde: Grau III	13
Figura 6 – Oócitos maturados	15
Figura 7 – Esquema de preparação do sêmen. A: gradiente de densidade antes da centrifugação. B: pós-centrifugação	15
Figura 8 – Processo de clivagem	16
Figura 9 – Desenvolvimento embrionário. Seta laranja: blastocisto; seta roxa: blastocisto expandido	17
Figura 10 – Imagem ultrassonográfica de prenhez de 30 dias	19

Capítulo 2

Figura 1 – Exemplo de protocolo para sincronização de cio nas receptoras usadas durante o experimento.	5
--	---

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

FIV – Fertilização In Vitro

MIV – Maturação In Vitro

CIV – Cultivo In Vitro

PIVE – Produção In Vitro de Embriões

OPU – Ovum Pick-Up

SFB – Soro Fetal Bovino

BSA – Albumina Sérica Bovina

LAV – Meio de Lavagem

PHE – Penicilamina, Hipotaurina, Epinefrina

CL – Corpo Lúteo

BE – Benzoato de Estradiol

ECP – Cipionato de Estradiol

ECG – Gonadotrofina Coriônica Equina

BL – Blastocisto

BX – Blastocisto Expandido

DG – Diagnóstico Gestacional

IATF – Inseminação Artificial em Tempo Fixo

TETF – Transferência de Embriões em Tempo Fixo

D0 – Dia 0

D1 – Dia 1

D4 – Dia 4

D7 – Dia 7

D8 – Dia 8

D10 – Dia 10

D17 – Dia 17

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – RELATÓRIO DE ESTÁGIO CURRICULAR SUPERVISIONADO	
1 IDENTIFICAÇÃO	8
1.1 Nome do aluno	8
1.2 Matrícula	8
1.3 Nome do supervisor	8
1.4 Nome do orientador	8
2 LOCAL DE ESTÁGIO	8
2.1 Nome do local de estágio	8
2.2 Localização	8
2.3 Justificativa de escolha do campo de estágio	8
3 DESCRIÇÃO DO LOCAL E DA ROTINA DE ESTÁGIO	8
3.1 Descrição do local de estágio	8
3.2 Descrição da rotina de estágio	9
3.3 Resumo quantificado das atividades	19
4 DIFICULDADES VIVENCIADAS	19
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	20
CAPÍTULO 2 – RELAÇÃO DA TAXA DE PREENHEZ COM O ESTÁGIO DE DESENVOLVIMENTO DO EMBRIÃO INOVULADO	
1 RESUMO	1
2 ABSTRACT	1
3 INTRODUÇÃO	2
4 MATERIAIS E MÉTODOS	4
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	6
6 CONCLUSÃO	7
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	8
8 ANEXO (S)	11

CAPÍTULO 1

1. IDENTIFICAÇÃO

1.1. Nome do aluno

Helena Ferreira de Oliveira

1.2. Matrícula

2019101202240413

1.3. Nome do supervisor

Márcia Carneiro de Sousa Silveira formada em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Goiás (UFG) (1988), qualificada em aprimoramento e implantação de larga escala da tecnologia de transferência de embriões bovinos gerados a partir da fertilização *in vitro* em todo território nacional. Especialista em aspiração folicular, transferência de embriões bovinos e líder em capacitação de pessoas.

1.4. Nome do orientador

Wesley José de Souza possui graduação em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Goiás (UFG) (1991), mestrado em Medicina Tropical e Saúde Pública pelo Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (2002) e doutorado em Medicina Veterinária pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (2013). Atualmente é professor do curso de Medicina Veterinária do Instituto Federal Goiano - Campus Urutaí, das disciplinas de Melhoramento Genético, Reprodução Animal, Epidemiologia e Virologia Animal.

2. LOCAL DE ESTÁGIO

2.1. Nome do local estágio

Fertilife Desenvolvimento e Produção Bovina

2.2. Localização

Avenida Castelo Branco, nº 1531, Setor Coimbra, Goiânia – GO.

2.3. Justificava de escolha do campo de estágio

A afinidade com a área de grandes animais veio desde o período em que cursava o técnico em agropecuária, onde pude realizar atividades voltadas à produção e reprodução bovina. Na graduação não foi diferente, a área de grandes animais era o que me fazia brilhar os

olhos. Com o início dos estágios na área, o campo de reprodução animal ganhou meu coração, principalmente a reprodução bovina. A partir daí realizei mais estágios nessa área e então o campo de escolha para estágio curricular não poderia ter sido diferente.

3. DESCRIÇÃO DO LOCAL E DA ROTINA DE ESTÁGIO

3.1. Descrição do local de estágio

A Fertilife está situada na capital do estado de Goiás, Goiânia. Surgiu em Goiânia no ano de 2014, para oferecer o que há de mais avançado em tecnologia de reprodução animal. Especializada em Produção *In Vitro* de Embriões (PIVE), um trabalho que permite uma rápida multiplicação, bem como o melhoramento genético do rebanho em um curto espaço de tempo. Atualmente a empresa conta com cerca de 30 colaboradores e possui o seu próprio laboratório onde realiza toda a cadeia da Produção *In Vitro* de Embriões Bovinos.

3.2. Descrição da rotina de estágio

O período de estágio iniciou-se no dia 1 de julho de 2023 e terminou no dia 1 de dezembro de 2023, contabilizando 100 dias úteis. A carga horária diária foi de 8 horas e 40 horas semanais, o que totalizou 800 horas de estágio final.

3.2.1 Produção In Vitro de Embriões

A PIVE (Produção In Vitro de Embriões) é a atividade principal da empresa onde o estágio foi realizado. É uma biotécnica que vem crescendo no mercado bovino a fim de acelerar o ganho genético do rebanho.

3.2.1.1 Aspiração folicular

O primeiro passo da PIVE foi a Aspiração Folicular Ovariana Guiada por Ultrassom, conhecida como OPU (Ovum Pick-Up). A OPU consiste na obtenção dos oócitos das vacas com o auxílio da ultrassonografia, por meio da punção folicular. Antes de iniciar a aspiração, era realizada anestesia epidural com lidocaína a 2%, para que o animal não contraísse durante o procedimento, pois é um

procedimento um tanto quanto invasivo e pode acabar ferindo o animal se realizado de maneira incorreta. A OPU foi realizada com auxílio de uma Guia de Aspiração (Figura 3), contendo um transdutor e uma agulha para punção ovariana acoplada a um mandril, conecta-se a este mandril uma linha de aspiração que é conectada, também, a uma rolha engatada a um tubo tipo Falcon onde contém solução fisiológica aquecida a 37°C, esta rolha conecta-se também a uma mangueira que está acoplada a uma bomba a vácuo (Figura 1). Com o uso de camisinha sanitária a guia foi inserida na vagina da vaca e o veterinário, através da palpação retal, segura o ovário e direciona a guia até ele. Com o auxílio da tela do ultrassom o veterinário consegue identificar os folículos ovarianos (Figura 2) que contém de 2 a 8 mm e direciona a agulha para que seja feita a punção. O vácuo da bomba succiona o líquido folicular que contém os oócitos, estes passam pela linha de aspiração e caem no tubo Falcon. Após realizar a punção dos dois ovários, a linha de aspiração foi lavada com solução mista de soro fisiológico e heparina. Posteriormente os oócitos aspirados passam por uma seleção.



Figura 1 - Mesa para OPU. Círculo amarelo: bomba a vácuo.

Fonte: Arquivo Pessoal, 2023.



Figura 2 - Imagem ultrassonográfica. Círculo vermelho: Ovário com folículos.
Fonte: Arquivo Pessoal, 2023.



Figura 3 - Guias para Aspiração Folicular. Seta vermelha: Guia para Aspiração de Vacas.
Seta Amarela: Guia para Aspiração de Novilhas.
Fonte: Arquivo Pessoal, 2023.

3.2.1.2 Rastreamento e classificação de oócitos

O fluido folicular foi colocado por meio de derrame em um mini filtro para oócitos e lavado com solução fisiológica aquecida para que permaneçam apenas os oócitos no filtro. Os oócitos foram transferidos para a placa de Petri onde serão rastreados com o auxílio de lupa e pipeta (Figura 4). Em uma placa limpa foi colocado o meio de lavagem (LAV), em gotas, composto por SFB (Soro Fetal Bovino), piruvato de sódio e gentamicina, onde os oócitos foram depositados para que, após rastreá-los na outra placa, passassem pela seleção.

Os oócitos foram selecionados de acordo com os complexos *cumulus*, em função do número de camadas e o grau de compactação e transparência das células do *cumulus*. De acordo com suas características, os oócitos foram classificados em viáveis, aqueles que têm bom desempenho na MIV (Maturação In Vitro), e inviáveis. Os oócitos viáveis (Figura 5) foram selecionados em Graus (I, II, III), sendo o Grau I oócitos com mais de três camadas de células do *cumulus*, contendo citoplasma com granulações finas e homogêneas. Os classificados em Grau II eram aqueles que possuíam *cumulus* compacto parcialmente presente em volta do oócito ou rodeando completamente, com menos de três camadas de células, contendo citoplasma com granulações distribuídas desigualmente. E oócitos Grau III foram aqueles que possuíam menos de três camadas incompletas de células do *cumulus* em sua volta, podendo ter citoplasma homogêneo ou heterogêneo.

Os oócitos classificados em inviáveis foram os considerados: pré-antrais (oócitos primários ainda em fase de desenvolvimento), desnudos (oócitos que não possuem células do *cumulus* em seu redor), expandidos (oócitos já maduros), degenerados/atresicos (oócitos que madureceram, mas não foram fecundados). Após a seleção, os oócitos eram transferidos para um micro tubo que contém o meio MIV, composto por SFB, hormônios (LH e FSH) e antibióticos, a fim de evitar

contaminações. Os micro tubos foram colocados em uma transportadora de oócitos e encaminhados até o laboratório.



Figura 4 - Rastreamento de oócitos.
Fonte: Arquivo Pessoal, 2023.

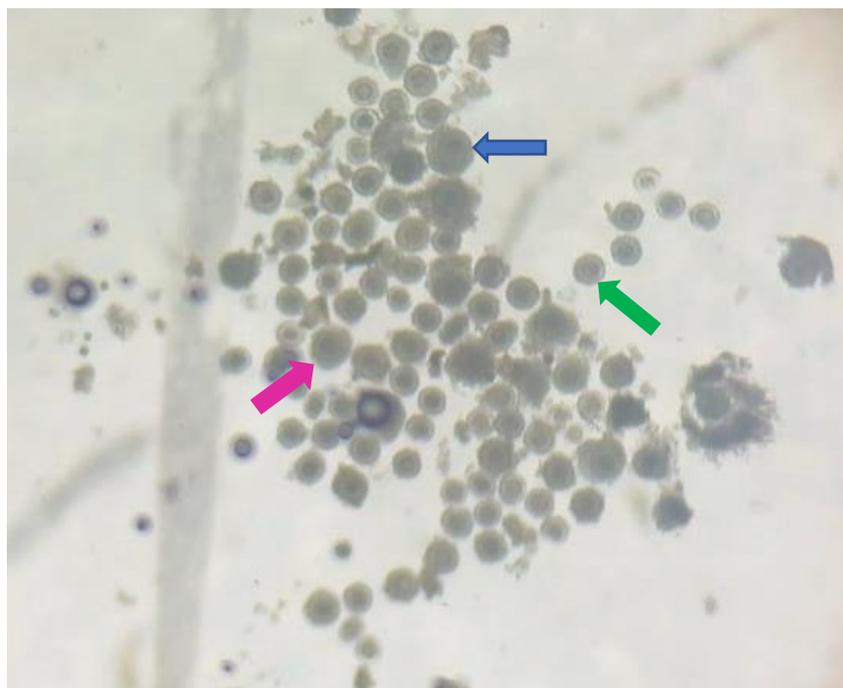


Figura 5 - Oócitos viáveis. Seta azul: oócito Grau I; seta rosa: oócito Grau II; seta verde: oócito Grau III.
Fonte: Arquivo Pessoal, 2023.

3.2.1.3 Maturação e Fertilização In Vitro

Já no laboratório, os micro tubos contendo oócitos em meio MIV foram colocados dentro de uma estufa incubadora com temperatura controlada a 38,5° e atmosfera de 5% de CO₂, em ar e umidade saturada. A maturação causa diversas modificações citoplasmáticas moleculares, bioquímicas e estruturais, tornando-os, assim, capazes de serem fecundados. Essas transformações ocorrem até 21 a 26 horas após a captação dos oócitos pela OPU.

Os oócitos maturados (Figura 6) eram transferidos para uma placa de Petri contendo gotas de meio para FIV (Fertilização In Vitro). Meio fabricado pelo próprio laboratório, composto por heparina e PHE (Penicilamina, Hipotaurina, Epinefrina).

No laboratório da empresa, os espermatozoides utilizados para FIV eram provenientes de sêmen congelado, mediante a isso, após o descongelamento foi necessário selecionar os espermatozoides vivos e moveis, capazes de fecundarem. Essa seleção foi feita através da técnica do gradiente de densidade. Foi usado o gradiente de Percoll, a 90% e a 45%, que é uma substância caracterizada pela capacidade de separação de células, partículas subcelulares, vírus e, no caso do sêmen, plasma seminal.

Em um tubo do tipo Eppendorf, foi colocado o Percoll a 90%. Logo acima adicionou-se o Percoll a 45%, de modo que ambas camadas não se misturassem. E por fim, o sêmen foi adicionado ao tubo (Figura 7). Este tubo foi colocado na centrífuga por 2 minutos a 9.000 rpm. Após centrifugação, os espermatozoides vivos e moveis possuíam densidade maior e se concentravam na parte inferior do Eppendorf, seguido pela camada de espermatozoides mortos e outras células e, acima, o plasma seminal.

Com auxílio de uma pipeta, os espermatozoides viáveis foram captados e lavados em meio FIV, logo após foram colocados na gota de meio FIV que contém os oócitos maduros e colocados na incubadora de

temperatura e atmosfera controlada. A etapa de FIV é considerada o D0 (Dia 0) da PIVE.



Figura 6 – Imagem Estereoscópica. Círculos azuis: Oócitos maturados.
Fonte: Arquivo Pessoal, 2023.

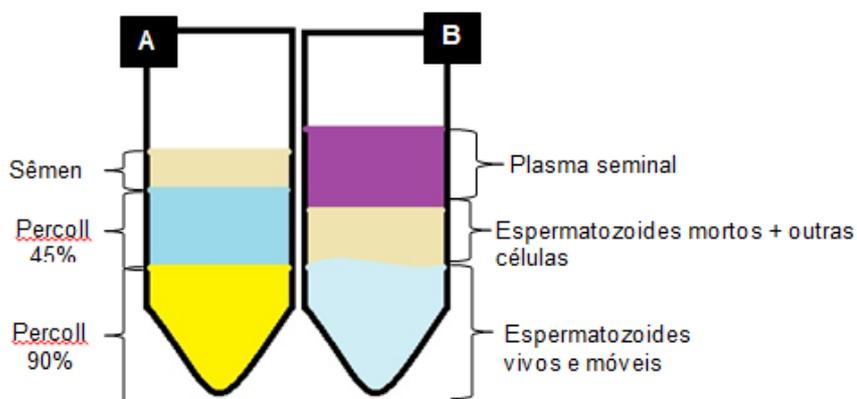


Figura 7 - Esquema de preparação de sêmen. A: gradiente de densidade antes da centrifugação. B: pós-centrifugação.
Fonte: Arquivo Pessoal, 2024.

3.2.1.4 Cultivo In Vitro

24 horas após a FIV, os possíveis zigotos foram transferidos para o meio de CIV (Cultivo In Vitro), considerado o D1 (Dia 1) da PIVE. Antes de transferi-los, foi necessário realizar a desnudação, ou seja, remoção das células de *cumulus* para que não tenha competição entre estas e os zigotos por nutrientes presentes no meio CIV.

O meio, composto SFB, BSA (Albumina Sérica Bovina), aminoácidos, piruvato, lactato e glutamina, foi colocado em gotas em uma nova placa de Petri. Os possíveis zigotos foram retirados da gota com meio FIV e lavados em meio LAV. Depois de lavados, foram transferidos para as gotas de meio CIV e para outra incubadora, com temperatura de 38,5°C, atmosfera controlada a 5% de O₂, 5% de CO₂ e 90% de N₂ e umidade saturada.

3.2.1.5 Avaliação da taxa de clivagem

A avaliação da taxa de clivagem (Figura 8) foi realizada no D4 (Dia 4) da PIVE. Inicialmente, no D4 realiza-se a troca de 50% do volume de cada gota do meio CIV. A avaliação da taxa de clivagem consiste em quantificar quantas estruturas se dividiram e o número de blastômeros formados em cada estrutura. Posterior à avaliação, os possíveis embriões voltaram para incubadora onde permaneceram até o D7 (Dia 7).



Figura 8 - Processo de clivagem.
Fonte: Arquivo Pessoal, 2023.

3.2.1.6 Classificação e Envase de Embriões

A classificação e o envase dos embriões foram realizados no D7. A classificação foi feita observando a morfologia das estruturas, selecionando os embriões aptos ao desenvolvimento após serem inovulados (transferidos). Os critérios de classificação foram seguidos de acordo com a *International Embryo Transfer Society (IETS)*, onde classifica os embriões em: Excelente ou bom (aqueles com massa embrionária simétrica e esférica, que possui blastômeros uniformes, com estágio de desenvolvimento adequado e com, no mínimo, 85% de material celular viável), Regular (aqueles que possuem pequenas irregularidades em sua forma e/ou tamanho, com pelo menos 50% de material celular viável), Pobre (possui irregularidades maiores em sua massa embrionária, com pelo menos 25% de material células viável) e Morto ou Degenerado. E também de acordo com seu estágio de desenvolvimento (Figura 9), sendo os estes: Blastocisto (BL) e Blastocisto Expandido (BX).

Após avaliação, os melhores embriões foram selecionados e envasados. O envase consiste em colocar o embrião em uma palheta juntamente com o meio de manutenção, composto por BSA. Após o envase, coloca-se um lacrador de palheta com número para fechar cada uma e estas são colocadas em uma transportadora de embriões. Na ficha de transferência é identificado o número de cada lacrador, o estágio embrião correspondente ao nº do lacrador e o acasalamento (doadora + touro).

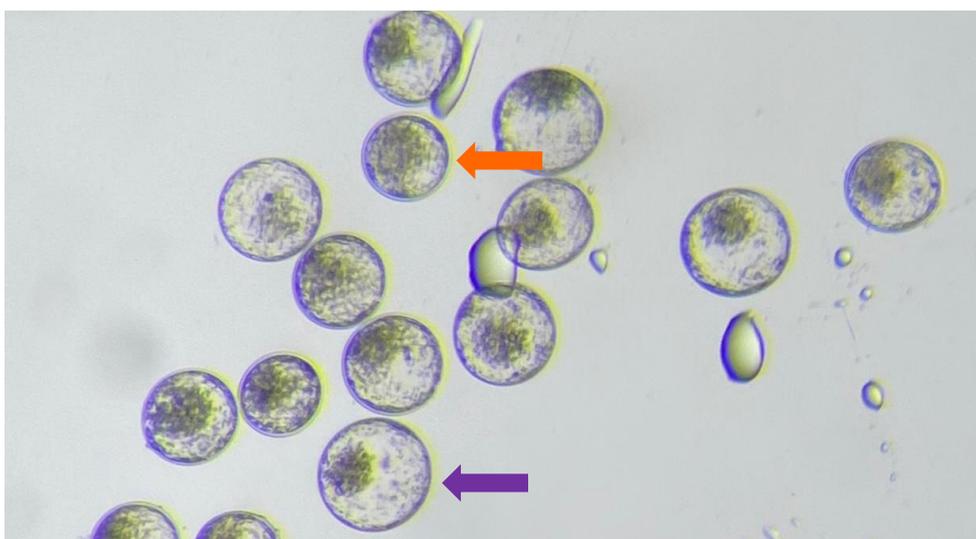


Figura 9 - Desenvolvimento embrionário. Seta laranja: blastocisto, com excelente massa embrionária; seta roxa: blastocisto expandido, com massa embrionária excelente.

Fonte: Arquivo Pessoal, 2023.

3.2.1.7 Inovulação de Embriões

A Transferência de Embriões (TE) realizada com embriões a fresco foi feita no D7 da PIVE, mas as receptoras estavam sincronizadas há 17 dias, ou seja, estavam no D17 (Dia 17) do protocolo.

Já a campo, as receptoras foram avaliadas para identificar aquelas que responderam ao protocolo, ou seja, aquelas que ovularam e possuíam um corpo lúteo (CL) capaz de manter a gestação. A identificação do CL foi feita pela palpação retal, geralmente com auxílio do ultrassom, e foi também identificado em qual ovário a receptora ovulou, direito ou esquerdo, para depositar o embrião no terço final do corno do mesmo lado em que houve ovulação. Quando identificado o CL, foi realizada anestesia epidural com lidocaína a 2% para que o animal não sentisse a manipulação em seu útero.

O palheta com embrião era colocada em uma bainha específica para TE, acompanhada de camisinha sanitária, e a bainha era colocada em um inovulador. O profissional responsável pela TE inseria o inovulador pela vagina do animal e com o auxílio da outra mão pelo reto passava-se a cervix, direcionando o inovulador pelo corno uterino ipsilateral a ovulação e desenrolando o corno até chegar no terço final para depositar o embrião.

3.2.2 Protocolos de sincronização de cio

Antes de realizar a PIVE, as receptoras eram avaliadas e protocoladas com objetivo de sincronizar a onda folicular e a ovulação dos animais. Foram realizados protocolos tanto para IATF (Inseminação Artificial em Tempo Fixo) quanto para TETF (Transferência de Embriões em Tempo Fixo).

Inicialmente, no D0 do Protocolo, os animais foram avaliados através da palpação retal com auxílio da ultrassonografia. Avaliou-se as condições reprodutivas, nutricionais e físicas do animal. Os animais aptos para IATF/TETF foram submetidos ao protocolo, onde era colocado um dispositivo intra-vaginal de progesterona (P4) e administrado, intramuscular, Benzoato de Estradiol, variando a dosagem de acordo

com o protocolo de cada empresa fornecedora para cada categoria animal (vacas solteiras, recém-parida, novilhas).

De 7 a 9 dias depois, foi feita a retirada do dispositivo de P4 e administrado, intramuscular, Cipionato de Estradiol, Prostaglandina F2alfa, Gonadotrofina Coriônica Equina.

Quando o protocolo era direcionado para IATF, 48 horas após a retirada de P4 era realizada a inseminação artificial nas vacas. Já na TETF, o processo de manejo nos animais era feito apenas no D17 (17 dias após o início do protocolo), que era o dia que os embriões se encontravam no 7º dia de desenvolvimento.

3.2.3 Diagnóstico Gestacional

O Diagnóstico Gestacional (DG) é de grande importância para o manejo reprodutivo das fazendas, foi realizado 30 dias após o D10 na IATF e 23 dias após o D17 na TETF e consiste na observação de imagens ultrassonográficas (Figura 10)

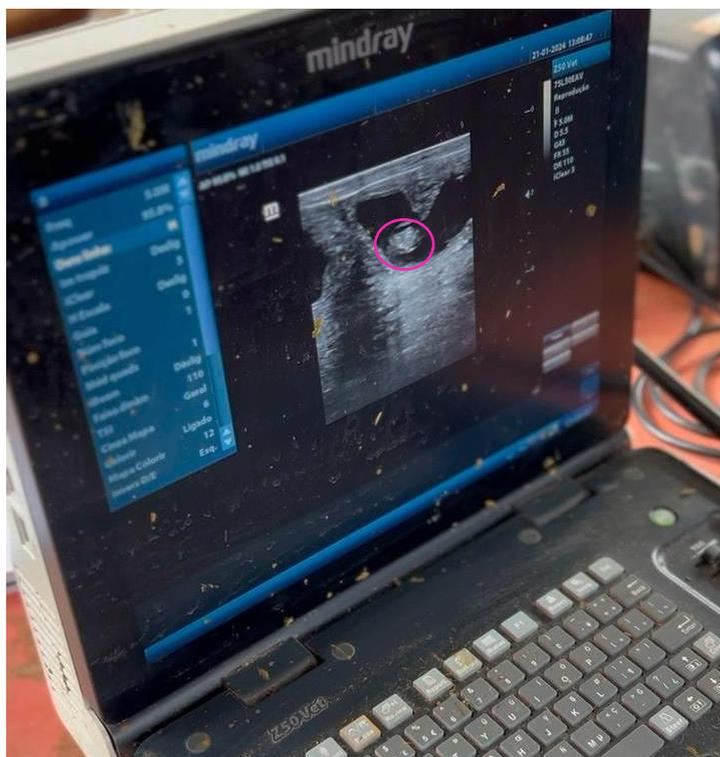


Figura 10 - Imagem ultrassonográfica de prenhez. Círculo rosa: embrião com 30 dias de desenvolvimento.
Fonte: Arquivo Pessoal, 2023.

3.3. Resumo quantificado das atividades

Quadro 1 – Atividades desenvolvidas no período de estágio

Descrição de Atividades	Quantidade (Dias)
OPU e Rastreamento de oócitos	38
TE	19
DG	18
D0	17
IA	3
FIV	15
CIV	12
D4	11
D8	1

4. DIFICULDADES VIVENCIADAS

No início foi um grande desafio mudar de cidade, sair da casa dos meus pais para estar em um lugar que não tinha muitos contatos. E também a insegurança de não conseguir realizar as atividades propostas. Mas com o passar do tempo fui me adaptando e conseqüentemente tive mais segurança em realizar as atividades que me eram propostas e que pude aprender na faculdade e em outros estágios realizados.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estágio curricular na Fertilife me proporcionou muitas experiências novas e boas que agregaram muito na minha vida profissional. Pude conhecer melhor a biotécnica reprodutiva que vem crescendo a cada dia mais na produção bovina e me qualificar na área para o mercado de trabalho.

Tive a oportunidade de trabalhar com pessoas que são referências na área de Reprodução Bovina, profissionais extraordinários que tive o prazer de acompanhar e aprender junto.

Capítulo 2

Relação da taxa de prenhez com o estágio de desenvolvimento do embrião inovulado

Relationship between pregnancy rate and the stage of development of the innovulated embryo

Helena Ferreira de Oliveira¹, Wesley José de Souza²

1 **Resumo**

2 A Produção *In Vitro* de embriões é uma técnica que tem crescido
3 mundialmente, com destaque no Brasil, que garante a seleção genética dos animais. É capaz
4 de produzir vários descendentes de um animal de alto potencial zootécnico eliminando
5 características indesejáveis presentes no rebanho. Com sua utilização é possível reduzir o
6 tempo de evolução entre gerações e garantir maior produção e qualidade do rebanho e do
7 produto final a depender do objetivo do criador. Vários fatores influenciam a taxa de prenhez
8 das receptoras, incluindo fatores extrínsecos como nutrição, manejo e estresse térmico, e
9 fatores intrínsecos como qualidade embrionária e produção de hormônios. Foram utilizados
10 dados sobre embriões de uma fazenda no estado de Goiás: 240 embriões transferidos,
11 classificados de acordo com seu desenvolvimento de blastocisto, BL e BX, com objetivo de
12 avaliar qual apresentava melhor resultado em relação à prenhez. Esta avaliação foi feita por
13 meio de exame ultrassonográfico 30 dias após a inovulação, ou seja, 37 dias de idade do
14 concepto. Esse estudo mostrou que embriões em estágio mais avançado (BX) têm maiores
15 taxas de prenhez em comparação com embriões em estágio anterior (BL). Isso sugere que o
16 estágio de desenvolvimento do embrião está diretamente relacionado à taxa de prenhez das
17 receptoras.

18 **Palavras-chave:** transferência, blastocisto, receptora, embrionário, endométrio.

19

20 **Summary**

¹ Instituto Federal Goiano; Campus Urutaí; Discente de Medicina Veterinária; Pires do Rio; Goiás; Brasil.

² Instituto Federal Goiano; Campus Urutaí; Docente de Reprodução Animal; Urutaí; Goiás; Brasil.

Endereço para correspondência: helena.ferreira02@outlook.com

21 The In Vitro Production of embryos is a technique that has grown worldwide, especially in
22 Brazil, which guarantees the genetic selection of animals. It is capable of producing several
23 offspring of an animal with high zootechnical potential, eliminating undesirable
24 characteristics present in the herd. By using it, it is possible to reduce the evolution time
25 between generations and guarantee greater production and quality of the herd and the end
26 product, depending on the breeder's objective. Several factors influence the pregnancy rate of
27 recipients, including extrinsic factors such as nutrition, management and heat stress, and
28 intrinsic factors such as embryo quality and hormone production. Data on embryos from a
29 farm in the state of Goiás was used: 240 transferred embryos, classified according to their
30 blastocyst development, BL and BX, with the aim of evaluating which had the best result in
31 terms of pregnancy. This assessment was carried out by ultrasound examination 30 days after
32 innovation, i.e. 37 days after the conceptus was born. This study showed that embryos at a
33 more advanced stage (BX) have higher pregnancy rates compared to embryos at an earlier
34 stage (BL). This suggests that the stage of development of the embryo is directly related to the
35 pregnancy rate of the recipients.

36 **Keywords:** transfer, blastocyst, recipient, embryo, endometrium.

37

38 **Introdução**

39 A produção *in vitro* de embriões (PIVE) é uma biotécnica importante para o
40 melhoramento genético animal, sendo capaz de aumentar a quantidade de descendentes de
41 uma vaca doadora de alto valor zootécnico (EMBRAPA, 2021). Consiste em uma técnica
42 assistida que prepara e cultiva os gametas em ambiente laboratorial a fim de gerar o zigoto,
43 cultivando-o até que atinja o estágio de desenvolvimento desejado, blastocisto, para que seja
44 transferido (Oliveira et al., 2014).

¹ Instituto Federal Goiano; Campus Urutaí; Discente de Medicina Veterinária; Pires do Rio; Goiás; Brasil.

² Instituto Federal Goiano; Campus Urutaí; Docente de Reprodução Animal; Urutaí; Goiás; Brasil.

Endereço para correspondência: helena.ferreira02@outlook.com

45 Esta biotécnica reprodutiva obteve uma grande expansão mundial, com ênfase ao
46 Brasil que representa um dos países mais importantes no mercado de embriões (Hasler, 2014).
47 O Brasil está em segundo lugar na produção *in vitro* de embriões obtidos a partir da aspiração
48 folicular guiada por ultrassom (Ovum Pick-Up – OPU) e é o líder em transferências de
49 embriões PIV em todo o mundo, representando 36,6% do total mundial (IETS, 2021).

50 O aumento da transferência de embriões PIV é um dos grandes desafios devido à sua baixa
51 eficiência. Dos oócitos coletados, apenas 35 a 40% chegam aos estágios de cultivo *in vitro*
52 (CIV), maturação *in vitro* (MIV) e FIV, aonde os mesmos vão para o estágio de blastocisto, e
53 destes, apenas 40% chegam ao estágio final do processo da transferência (Gottardi e Mingoti,
54 2009).

55 É fundamental a sincronia entre concepto e o endométrio para o estabelecimento da
56 gestação, reconhecimento materno e manutenção gestacional, implantação do blastocisto e
57 placentação (Aheem, 2017). O reconhecimento materno acontece através do agente
58 *interferon-tau* produzido pelo concepto, age via parácrina no útero evitando a luteólise
59 (Roberts, 1989).

60 O estágio de desenvolvimento do embrião origina-se por diversos fatores, sendo eles,
61 sincronia entre embriões, doadoras e receptoras, classificação dos embriões e qualidade do
62 corpo lúteo (CL) presente no ovário, aspectos extremamente importantes no programa de
63 Transferência de Embriões (TE), influenciando diretamente na taxa de prenhez (Veloso Neto
64 et al., 2014).

65 Vários fatores interferem na taxa de prenhez das receptoras. São eles os fatores
66 extrínsecos: nutricionais, manejo e fatores ambientais, sendo o estresse térmico uma das
67 principais causas de variação nos resultados da TE. Já os intrínsecos são: morfologia e
68 qualidade do corpo lúteo, estágio de desenvolvimento embrionário, hormônios e produção de

¹ Instituto Federal Goiano; Campus Urutaí; Discente de Medicina Veterinária; Pires do Rio; Goiás; Brasil.

² Instituto Federal Goiano; Campus Urutaí; Docente de Reprodução Animal; Urutaí; Goiás; Brasil.

Endereço para correspondência: helena.ferreira02@outlook.com

69 progesterona (Oyuela e Jimenez, 2010).

70 A mortalidade embrionária está relacionada a diversos motivos, entre eles,
71 anormalidades cromossômicas, falha no agente *interferon-tau*, qualidade dos embriões
72 inovulados, fatores intrínsecos dentro do embrião, qualidade embrionária e estado nutricional
73 das receptoras (Sartori e Dode, 2008).

74 Este trabalho foi realizado como objetivo de relacionar as taxas de prenhez de
75 receptoras bovinas ao estágio de desenvolvimento dos embriões PIV transferidos, discorrendo
76 e comparando possíveis causas para os resultados obtidos.

77

78 **Material e Métodos**

79 O experimento foi desenvolvido em uma fazenda no estado de Goiás. Os dados
80 utilizados foram coletados nos meses de agosto a novembro de 2023. Utilizou-se um total de
81 240 animais da raça girolando com idade média de 24 meses, após randomização foram
82 divididos em dois grupos um com 120 animais que foram inovulados com embriões na fase
83 de blastocisto (BL) e outro com a mesma quantidade de animais que receberam a inovulação
84 com embriões na fase de blastocisto (BX)

85 Os oócitos das doadoras foram obtidos através da aspiração folicular guiada por
86 ultrassonografia (Ovum Pick-Up – OPU). E os mesmos foram classificados, segundo Mundim
87 et al. (2021), em viável (grau I, II e III) ou inviáveis (sem *cumulus*, degenerado, atrésico ou
88 expandido), posteriormente foram colocados em meios de cultivo e conduzidos até o
89 laboratório para as etapas de produção *in vitro*, passando por um processo de maturação,
90 fertilização e cultivo em ambiente controlado.

91 Os embriões produzidos a partir deste processo foram classificados de acordo com
92 Pinheiro et al. (2021) segundo o estágio de desenvolvimento em que se encontrava, sendo a

¹ Instituto Federal Goiano; Campus Urutaí; Discente de Medicina Veterinária; Pires do Rio; Goiás; Brasil.

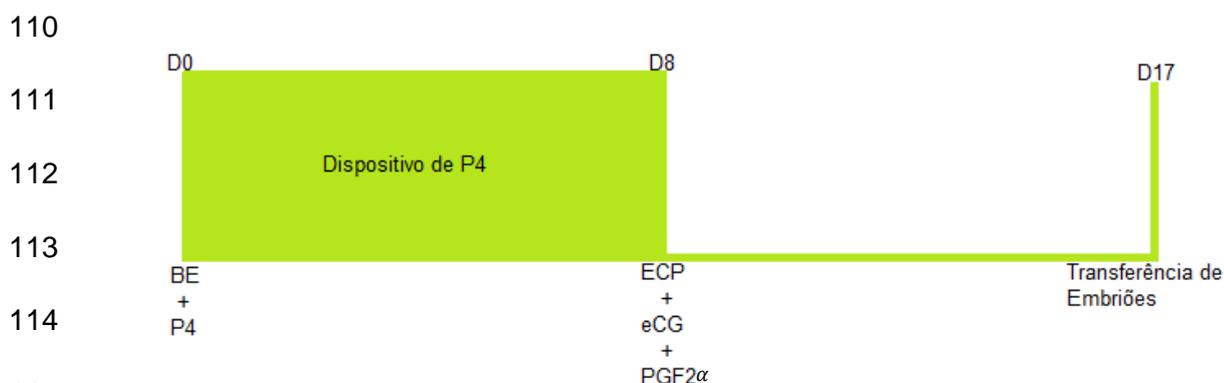
² Instituto Federal Goiano; Campus Urutaí; Docente de Reprodução Animal; Urutaí; Goiás; Brasil.

Endereço para correspondência: helena.ferreira02@outlook.com

93 fase de blastocisto (BL) onde a estrutura em que a blastocele aumenta de tamanho e ocupa a
 94 maior parte da zona pelúcida e blastocisto expandido (BX) onde a estrutura do blastocele
 95 aumenta de tamanho e ocorre uma redução da zona pelúcida.

96 Para pré-seleção das receptoras, foi executada uma avaliação criteriosa
 97 individualmente, considerando vários fatores que poderiam influenciar no sucesso da
 98 biotécnica, tais como: escore corporal variando entre 2,5 a 3,5, controle parasitário e controle
 99 de vacinação. As fêmeas que apresentaram condições físicas adequadas foram selecionadas e
 100 designadas a exames ginecológicos, avaliação uterina e ovariana através da palpação com
 101 auxílio da ultrassonografia. Aquelas que foram selecionadas no exame ginecológico foram
 102 utilizadas como receptoras e posteriormente submetidas ao protocolo de sincronização da
 103 ovulação para transferência de embriões.

104 O protocolo de sincronização de cio nas receptoras realizado durante o experimento
 105 teve início no dia zero (D0), com a implantação do dispositivo intravaginal de progesterona
 106 (P4) e administração via intramuscular (IM) de 2ml de benzoato de estradiol (BE). No oitavo
 107 dia (D8) realizou-se a retirada do dispositivo de P4 e aplicação, também por via IM, 0,5 ml de
 108 cipionato de estradiol (ECP), 1,5 de gonadotrofina coriônica equina (eCG) e 2 ml de
 109 prostaglandina $F2\alpha$ (PGF 2α) (Figura 1).



116 Figura 1 – Exemplo de protocolo para sincronização de cio nas receptoras usadas durante o
 117 experimento.

116 No décimo sétimo dia (D17), antes da inovulação nas vacas receptoras, as mesmas
 117

¹ Instituto Federal Goiano; Campus Urutaí; Discente de Medicina Veterinária; Pires do Rio; Goiás; Brasil.

² Instituto Federal Goiano; Campus Urutaí; Docente de Reprodução Animal; Urutaí; Goiás; Brasil.

Endereço para correspondência: helena.ferreira02@outlook.com

118 foram avaliadas através da palpação retal e ultrassonografia a fim de visualizar se a receptora
 119 ovulou e o ovário em que houve ovulação, direito ou esquerdo. Os animais que ovularam e
 120 apresentavam o CL estavam aptos a receber os embriões e as que não apresentavam CL eram
 121 descartadas.

122 Para transferir o embrião foi administrado anestesia via epidural, 3ml, com lidocaína a
 123 2%. Os embriões foram depositados no terço final do corno uterino ipsilateral ao CL. Foram
 124 transferidos, para o experimento, um total de 240 embriões, sendo 120 destes classificados em
 125 BL e 120 em BX. As receptoras passaram pelo diagnóstico de gestação 30 dias após a data de
 126 inovulação.

127 **Resultados e Discussão**

128 54 das 120 receptoras que foram inovuladas com embriões no estágio de
 129 desenvolvimento BL foram diagnosticadas como gestantes e 68 das 120 que receberam a
 130 inovulação com embriões no estágio BX apresentaram prenhez positiva.

131

Tabela 1 – Taxa de prenhez em relação ao estágio de desenvolvimento dos embriões transferidos

Estágio de desenvolvimento	Total de embriões transferidos	Taxa de prenhez
BL	120	45,00% (54/120)
BX	120	56,66% (68/120)

132

133 No desenvolvimento embrionário, com a formação do blastocisto, tem-se a fase
 134 denominada blastocisto inicial, onde há uma pequena cavidade e início da distinção celular, os
 135 estágios posteriores são caracterizados pelo aumento desta cavidade. No estágio BL
 136 aproximadamente metade do embrião é preenchido por células e a outra por líquido, conforme
 137 a quantidade de líquido aumenta ocorre a expansão da cavidade, onde o embrião encontra-se
 138 no estágio de BX. Para que o desenvolvimento do embrião tenha continuidade há um

¹ Instituto Federal Goiano; Campus Urutaí; Discente de Medicina Veterinária; Pires do Rio; Goiás; Brasil.

² Instituto Federal Goiano; Campus Urutaí; Docente de Reprodução Animal; Urutaí; Goiás; Brasil.

Endereço para correspondência: helena.ferreira02@outlook.com

139 rompimento da zona pelúcida e posteriormente o contato com o endométrio. Segundo
140 Clemente et al. (2009) posteriormente a eclosão do blastocisto, secreções endometriais
141 realizam transformações morfológicas com o alongamento do embrião. O que explica a
142 melhor taxa de prenhez dos embriões em estágio BX, pois estes estão mais próximos da
143 eclosão.

144 O grau de alongamento é dependente das secreções liberadas pela mãe, no caso a
145 receptora, estando diretamente ligado com a capacidade de produção de *interferon-tau* (Mann
146 e Lamming, 2001), que só é produzido quando ocorre o contato do embrião com endométrio,
147 evitando a lise do corpo lúteo, o que também explica os resultados obtidos neste experimento
148 com os embriões mais próximos à eclosão.

149 Segundo Pacheco et al. (2018), os resultados obtidos no experimento realizado (Tabela
150 1) estão dentro da média esperada que varia de 30 a 55% de prenhez. Os resultados
151 apresentados na Tabela 1 são semelhantes àqueles encontrados por Leme (2008), onde
152 independentemente do tratamento utilizado os embriões BX tiveram maior taxa de eclosão,
153 por consequência da maior probabilidade de implantação bem sucedida que os embriões BL.
154 Segundo Veloso Neto et al. (2014) estágios de desenvolvimento embrionário muito precoces
155 ou muito tardios contribuem para uma queda na taxa de prenhez. Florentino et al. (2013)
156 também obteve melhor taxa de prenhez com embriões BX em relação as outras fases de
157 desenvolvimento.

158

159 **Conclusão**

160 Diante do resultado apresentado no presente estudo, conclui-se que o estágio de
161 desenvolvimento do embrião a ser inovulado está diretamente ligado a taxa de prenhez das
162 receptoras; os embriões BX apresentam maiores taxas de prenhez quando comparados aos

¹ Instituto Federal Goiano; Campus Urutaí; Discente de Medicina Veterinária; Pires do Rio; Goiás; Brasil.

² Instituto Federal Goiano; Campus Urutaí; Docente de Reprodução Animal; Urutaí; Goiás; Brasil.

Endereço para correspondência: helena.ferreira02@outlook.com

163 embriões BL. Em virtude de seu estágio mais avançado de desenvolvimento, os embriões BX
164 tendem a exibir uma maior coerência na qualidade e na integridade de suas estruturas
165 celulares, bem como uma maior capacidade de se comunicar com o ambiente uterino
166 receptivo.

167

168

169

170

171

172

173

174

175

176

177

178

179

180

181

182

183

184

185

186

¹ Instituto Federal Goiano; Campus Urutaí; Discente de Medicina Veterinária; Pires do Rio; Goiás; Brasil.

² Instituto Federal Goiano; Campus Urutaí; Docente de Reprodução Animal; Urutaí; Goiás; Brasil.

Endereço para correspondência: helena.ferreira02@outlook.com

187

188 **Referências**

189 AHEEM, K. A. An insight into maternal recognition of pregnancy in mammalian species.

190 Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, v.1, n.16, p. 1-6, 2017.

191 CLEMENTE, M.; DE LA FUENTE, J.; FAIR, T. et al. Progesterone and conceptus

192 elongation in cattle: A direct effect on the embryo or an indirect effect via the endometrium.

193 Research Reproduction, v.138, n.3, p. 507-517, 2009.

194 FLORENTINO, C.; MARIANI, A.; SOUZA, J. et al. Pregnancy rates bovine recipients

195 inoovulated with in vitro produced IVP embryos in the Legal Amazon. Journal of Animal

196 Science Advances, v.3, n.4, p.1-10, 2013.

197 GOTTARDI, F. P.; MINGOTI, G. Z. Maturação de oócitos bovinos e influência na aquisição

198 da competência para o desenvolvimento do embrião. Revista Brasileira de Reprodução

199 Animal, v.33, n.2, p.82-94, 2009.

200 MANN, G. E.; LAMMING G. E. Relationship between maternal endocrine environment,

201 early embryo development and inhibition of the the luteolytic mechanism in cows.

202 Reproduction, v.121, n.1, p.175-180, 2001.

203 MUNDIM, M.L.; SILVEIRA, M.C.; SCHEFER, L.; DE DEUS, K.E.; PEREIRA, I.M.

204 Seleccionador de oócitos, 2021.

205 HASLER, J.F. Forty years of embryo transfer in cattle: A review focusing on the journal

206 OLIVEIRA, C.S.; SARAPIÃO, R.V.; QUINTÃO, C.C.R. Biotécnicas da Reprodução em

207 Bovinos. EMBRAPA GADO DE LEITE, Documento 175, Juiz de Fora – MG, 2014.

208 OYUELA, L. A.; JIMENEZ, C. Factores que afectan la tasa de preñes em programas de

209 transferencia de embriones. Revista de Medicina Veterinaria e Zootecnia, v.57, n.1, p.191-

210 200, 2010.

¹ Instituto Federal Goiano; Campus Urutaí; Discente de Medicina Veterinária; Pires do Rio; Goiás; Brasil.

² Instituto Federal Goiano; Campus Urutaí; Docente de Reprodução Animal; Urutaí; Goiás; Brasil.

Endereço para correspondência: helena.ferreira02@outlook.com

- 211 PACHECO, S. L.; HOPPEN, A. R.; SOUZA ROSA, F. Comparação da taxa de prenhez
212 conforme o estágio de desenvolvimento de embriões produzidos in vitro e transferidos em
213 bovinos de corte e leite. Revista de Ciências Agroveterinárias e Alimentos, v.2, n.1, p.1-11,
214 2018.
- 215 PEIXER, P.F.; SANTOS, K.J.G.; SANTOS, A.P.P.; BACKES, C.; SANTOS, J.F.D.;
216 CASTRO, C.S. Produção *In Vitro* de embriões bovinos. Revista Espacios, v.38, n.16, p.2,
217 2018.
- 218 personal reminiscences. Theriogenology Journal. v.81, p.152-169, 2014.
- 219 PINHEIRO, A. K.; JUNIOR, J. M. C.; CAVALCANTE, F. A. et al. Qualidade oocitária e
220 nível de maturação de embriões nelore na taxa de gestação no Acre. In: III Seminário da
221 Embrapa Acre de Iniciação Científica e Pós-graduação, 2021, Rio Branco, Acre. Anais...
222 Acre: Embrapa Acre, 2021, p.65-70
- 223 ROBERTS, R. M. A novel group of interferons associated with the early ovine and bovine
224 embryo, Journal of Interferon Research, v.9, n.1, p.373-378, 1989.
- 225 SARTORI, R.; DODE, M. A. N. Mortalidade embrionária na IA, TE, FIV e clonagem. In: 3º
226 Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, 2008, Londrina, Paraná. Anais...
227 Londrina: Biotecnologia da Reprodução em Bovinos, 2008, p.175-194.
- 228 VELOSO NETO, H. F.; SILVA, J. C. F.; PEREIRA, L. C. et al. Parâmetros que afetam a taxa
229 de prenhez de receptoras bovinas de embriões produzidos in vitro. Medicina Veterinária
230 (UFRPE), v.8, n.3, p.31-35, 2014.
- 231 VIANA, J.H.M. Estatísticas de produção e transferência de embriões 2021. Sociedade
232 Internacional de Tecnologia de Embriões (IETS), v.40, n.4, dezembro. 2022.

¹ Instituto Federal Goiano; Campus Urutaí; Discente de Medicina Veterinária; Pires do Rio; Goiás; Brasil.

² Instituto Federal Goiano; Campus Urutaí; Docente de Reprodução Animal; Urutaí; Goiás; Brasil.

Endereço para correspondência: helena.ferreira02@outlook.com

Anexos

Revista Brasileira de Ciência Veterinária

Diretrizes para autores:

Os manuscritos devem ser redigidos na forma impessoal, espaço entre linhas duplo (exceto nas tabelas e figuras), fonte Times New Roman tamanho 12, em folha branca formato A4 (21,0 X 29,7 cm), com margens de três cm, páginas numeradas seqüencialmente em algarismos arábicos, não excedendo a 20, incluindo tabelas e figuras (inclusive para artigos de revisão). As páginas devem apresentar linhas numeradas (a numeração é feita da seguinte forma: menu arquivo/configurar página/layout/números de linha.../numerar linhas).

Citações no texto: são mencionadas com a finalidade de esclarecer ou completar as idéias do autor, ilustrando e sustentando afirmações. Toda documentação consultada deve ser obrigatoriamente citada em decorrência aos direitos autorais. As citações de autores no texto são em letras minúsculas, seguidas do ano de publicação. Quando houver dois autores, usar “e” e, no caso de três ou mais autores, citar apenas o sobrenome do primeiro, seguido de et al. (não-italico). Menciona-se a data da publicação que deverá vir citada entre parênteses, logo após o nome do autor. As citações feitas no final do parágrafo devem vir entre parênteses e separadas por ponto e vírgula, em ordem cronológica. Deve-se evitar referências bibliográficas oriundas de publicações em eventos técnico-científicos (anais de congressos, simpósios, seminários e similares), bem como teses, dissertações e publicações na internet (que não fazem parte de periódicos científicos). Deve-se, então, privilegiar artigos publicados em periódicos com corpo editorial (observar orientações percentuais e cronológicas no último parágrafo do item “Referências”).

Citação de citação (apud): não é aceita.

Língua: Portuguesa, Inglesa ou Espanhola.

Tabela: deve ser mencionada no texto como Tabela (por extenso) e refere-se ao conjunto de dados alfanuméricos ordenados em linhas e colunas. São construídas apenas com linhas horizontais de separação no cabeçalho e ao final da tabela. A legenda recebe inicialmente a palavra Tabela, seguida pelo número de ordem em algarismo arábico (Ex.: Tabela 1. Ganho médio diário de ovinos alimentados com fontes de lipídeos na dieta). Ao final do título não deve conter ponto final. Não são aceitos quadros.

Figura: deve ser mencionada no texto como Figura (por extenso) e refere-se a qualquer ilustração constituída ou que apresente linhas e pontos: desenho, fotografia, gráfico, fluxograma, esquema etc. Os desenhos, gráficos e similares devem ser feitos com tinta preta, com alta nitidez. As fotografias, no tamanho de 10 × 15 cm, devem ser nítidas e de alto contraste. As legendas recebem inicialmente a palavra Figura, seguida do número de ordem em algarismo arábico (Ex.: Figura 1. Produção de leite de vacas Gir sob estresse térmico nos anos de 2005 e 2006). Chama-se a atenção para as proporções entre letras,

¹ Instituto Federal Goiano; Campus Urutaí; Discente de Medicina Veterinária; Pires do Rio; Goiás; Brasil.

² Instituto Federal Goiano; Campus Urutaí; Docente de Reprodução Animal; Urutaí; Goiás; Brasil.

números e dimensões totais da figura: caso haja necessidade de redução, esses elementos também são reduzidos e correm o risco de ficar ilegíveis. final do título não deve conter ponto final.

Tanto as tabelas quanto as figuras devem vir o mais próximo possível, após sua chamada no texto.

TIPOS E ESTRUTURA DE ARTIGOS PARA PUBLICAÇÃO:

- 1) **Artigos científicos:** devem ser divididos nas seguintes seções: título, título em inglês, autoria, resumo, palavras-chave, summary, keywords, introdução, material e métodos, resultados e discussão, agradecimentos (opcional) e referências; e
- 2) **Artigos de revisão:** devem conter: título, título em inglês, autoria, resumo, palavras-chave, summary, keywords, introdução, desenvolvimento, conclusões, agradecimentos (opcional) e referências.
- 3) **Relatos de caso:** devem conter: título, título em inglês, autoria, resumo, palavras-chave, summary, keywords, introdução, relato do caso, discussão e conclusões, agradecimentos (opcional) e referências.

Os títulos de cada seção devem ser digitados em negrito, justificados à esquerda e em letra maiúscula.

Título: Em português (negrito) e em inglês (itálico), digitados somente com a primeira letra da sentença em maiúscula e centralizados. Devem ser concisos e indicar o conteúdo do trabalho. Evitar termos não significativos como “estudo”, “exame”, “análise”, “efeito”, “influência”, “avaliação” etc.

Autores: A nomeação dos autores deve vir logo abaixo do título em inglês. Digitar o nome completo por extenso, tendo somente a primeira letra maiúscula. Os autores devem ser separados por vírgula. Todos devem estar centralizados. (Ex.: Roberto Carlos de Oliveira). A cada autor deverá ser atribuído um número arábico sobrescrito ao final do sobrenome, que servirá para identificar as informações referentes a ele. No rodapé da primeira página deverá vir justificada a esquerda e em ordem crescente a numeração correspondente, seguida pela afiliação do autor: Instituição; Unidade; Departamento; Cidade; Estado e País. Deve estar indicado o autor para correspondência com o respectivo endereço eletrônico.

Resumo e Summary: Devem conter entre 200 e 250 palavras cada um, em um só parágrafo. Não repetir o título. Cada frase deve ser uma informação e não apresentar citações. Deve se iniciar pelos objetivos, descrever o material e métodos e apresentar os resultados seguidos pelas conclusões. Toda e qualquer sigla deve vir precedida da explicação por extenso. Ao submeter artigos em outra língua, deve constar o resumo em português.

Palavras-chave e keywords: Entre três e cinco, devem vir em ordem alfabética, separadas por vírgulas, sem ponto final, com informações que permitam a compreensão e a indexação do trabalho. Não são aceitas palavras-chave que já constem do título.

¹ Instituto Federal Goiano; Campus Urutaí; Discente de Medicina Veterinária; Pires do Rio; Goiás; Brasil.

² Instituto Federal Goiano; Campus Urutaí; Docente de Reprodução Animal; Urutaí; Goiás; Brasil.

Endereço para correspondência: helena.ferreira02@outlook.com

Introdução: Deve conter no máximo 2.500 caracteres com espaços. Explicação de forma clara e objetiva do problema investigado, sua pertinência, relevância e, ao final, os objetivos com a realização do estudo.

Material e Métodos (exceto para artigos de revisão e relato de caso): Não são aceitos subtítulos. Devem apresentar seqüência lógica da descrição do local, do período de realização da pesquisa, dos tratamentos, dos materiais e das técnicas utilizadas, bem como da estatística utilizada na análise dos dados. Técnicas e procedimentos de rotina devem ser apenas referenciados. Conter número de protocolo de aprovação do Comitê de Ética em Uso de Animais da Instituição de no qual o estudo foi realizado.

Resultados e Discussão (exceto para artigos de revisão e relato de caso): Os resultados podem ser apresentados como um elemento do texto ou juntamente com a discussão, em texto corrido ou mediante ilustrações. Interpretar os resultados no trabalho de forma consistente e evitar comparações desnecessárias. Comparações, quando pertinentes, devem ser discutidas e feitas de forma a facilitar a compreensão do leitor.

Conclusões: Não devem ser repetição dos resultados e devem responder aos objetivos expressos no artigo.

Referências: Devem ser relacionadas em ordem alfabética pelo sobrenome e contemplar todas aquelas citadas no texto. Menciona-se o último sobrenome em maiúsculo, seguido de vírgula e as iniciais abreviadas por pontos, sem espaços. Os autores devem ser separados por ponto e vírgula. Digitálas em espaço simples, com alinhamento justificado a esquerda. As referências devem ser separadas entre si (a separação deve seguir o caminho parágrafo/espacamento e selecione: depois seis pontos). No mínimo **50%** das referências devem ser de artigos publicados nos últimos dez anos. Referências de **livros, anais, internet, teses, dissertações, monografias**, devem ser evitadas.

¹ Instituto Federal Goiano; Campus Urutaí; Discente de Medicina Veterinária; Pires do Rio; Goiás; Brasil.

² Instituto Federal Goiano; Campus Urutaí; Docente de Reprodução Animal; Urutaí; Goiás; Brasil.

Endereço para correspondência: helena.ferreira02@outlook.com