



FATORES QUE AFETAM A PRODUÇÃO *IN VITRO* DE EMBRIÕES (PIVE) EM BOVINOS

Braion Gabriel Becher¹, Adalgiza Pinto Neto², William de Oliveira³, Marcelo Falci Mota², João Paulo Jelonschek¹

¹Graduando. Curso de Medicina Veterinária. Universidade Federal da Fronteira Sul. Campus Realeza. Realeza-PR.

²Docente. Curso de Medicina Veterinária. Universidade Federal da Fronteira Sul. Campus Realeza. Realeza-PR

³Mestrando em Saúde Animal e Desenvolvimento Sustentável na Fronteira Sul. Universidade Federal da Fronteira Sul. Campus Realeza. Realeza-PR.
E-mail: williamoliveira.vet@gmail.com

Recebido em: 22/09/2018 – Aprovado em: 23/11/2018 – Publicado em: 03/12/2018
DOI: 10.18677/EnciBio_2018B48

RESUMO

Visto a ascendência do setor agropecuário, é de suma importância a aplicação de tecnologias que promovam maior desempenho e eficiência dos animais. Na bovinocultura, fatores como manejo, nutrição, sanidade, genética e reprodução são a base da cadeia produtiva. Nesse contexto, objetiva-se com esse estudo discutir os principais fatores que afetam a produção de embriões *in vitro* (PIVE) em bovinos. Enfatizar-se-á ainda aspectos reprodutivos dos animais, ainda ineficazes no Brasil, cuja eficiência se relaciona com a adoção de biotecnologias, sendo a (PIVE) uma das principais, destacando o Brasil como maior produtor de embriões do mundo. A PIVE é uma ótima ferramenta para multiplicação rápida de animais de alto valor zootécnico, diminuindo assim, o intervalo de gerações. Porém, sua utilização é dependente de procedimentos complexos que vão desde a aspiração folicular das doadoras até a formação de um embrião viável, que ao ser transferido a receptoras levam a uma gestação viável. No entanto, vários são os fatores e variáveis que podem afetar os resultados dessa tecnologia, como a raça da doadora e touro, fatores nutricionais, estágio reprodutivo e idade da doadora, estimulação hormonal e número de aspirações ovarianas efetuadas, características do sêmen e do reprodutor, transporte e meio de cultivos utilizados.

PALAVRAS-CHAVE: doadoras, embriões *in vitro*, receptoras.

FACTORS AFFECTING THE *IN VITRO* PRODUCTION OF EMBRYOS (IVPE) IN CATTLE. LITERATURE REVIEW

ABSTRACT

Given the ascendancy of the agricultural sector, it is of utmost importance to apply technologies that promote greater performance and efficiency of the animals. In bovine farming, factors such as management, nutrition, sanitation, genetics and reproduction are the basis of the production chain. In this context, the aim of this

study is to discuss the main factors that affect production of embryos *in vitro* (IVPE) in cattle. Emphasis will also be given to reproductive aspects of animals, still ineffective in Brazil, whose efficiency is related to the adoption of biotechnologies, with the IVPE being one of the main ones, highlighting Brazil as the largest producer of embryos in the world. IVPE is a great tool for rapid multiplication of animals of high zootechnical value, thus reducing the generation interval. However, its use is dependent on complex procedures ranging from the follicular aspiration of donors to the formation of a viable embryo, which when transferred to receptors lead to viable gestation. However, there are several factors and variables that may affect the results of this technology, such as the donor and breed the bull, nutritional factors, reproductive stage and age of the donor, hormonal stimulation and number of ovarian aspirations performed, semen and bull characteristics, transport and means of cultivation used.

KEYWORDS: donors, *in vitro* embryos, recipients.

INTRODUÇÃO

O setor agropecuário atual busca uma produção sustentável e eficiente, buscando-se otimizar a utilização das áreas já exploradas (SILVA et al., 2013). Neste aspecto, a bovinocultura tem se mostrado em pleno desenvolvimento, com a contribuição de fatores como a nutrição, manejo, sanidade e genética, que melhora rapidamente graças ao desenvolvimento e disseminação das biotecnologias da reprodução (VELOSO NETO et al., 2014; MELLO et al., 2016a).

São quatro as gerações de tecnologia de reprodução assistida, começando pela inseminação artificial e criopreservação de gametas e embriões, superovulação e transferência de embriões na segunda geração, sexagem espermática e embrionária, e a produção *in vitro* de embriões (PIVE) na terceira geração, e a clonagem representando a quarta geração (BERTOLINI; BERTOLINI, 2009).

Blondin (2015) relatou que a PIVE teve um significativo crescimento a partir da década de 1990, chegando em 2013 a representar 42% de todos os embriões produzidos no mundo, totalizando mais de meio milhão. No Brasil, entre os anos de 2001 e 2013, a PIVE expandiu mais de sete vezes, passando de 50.000 embriões à 366.517 embriões produzidos (KADARMIDEEN et al., 2015).

O Brasil é o país que mais desenvolve a PIVE, com quase 50% da produção mundial (VIANA; CAMARGO, 2007). A fertilização *in vitro* (FIV) vem se difundindo como opção nas fazendas brasileiras, para multiplicação rápida, principalmente, de fêmeas de alto valor zootécnico, uma vez que as fêmeas bovinas podem ser submetidas a aspiração folicular guiada por ultrassom (*ovum pick up* - OPU) a cada 15 dias resultando em média a três gestações por procedimento (PONTES et al., 2011).

Mesmo com tais avanços, a PIVE ainda possui algumas limitações devido a fatores que podem afetar tanto a qualidade do embrião produzido, como também a taxa de gestação de receptoras. Scanavez et al. (2013) relataram que a taxa de gestação e a perda da gestação podem sofrer efeito do grupo genético da receptora, o lado do corpo lúteo (CL), do touro, do estágio de desenvolvimento e do tempo de cultivo do embrião, da sequência de horas de serviço gastas para realizar as inovulações, do número de inovulações prévias realizadas em cada receptora, e do tempo de transporte e meios de cultivos utilizados.

Mello et al. (2016b) relataram que os fatores ligados a doadora podem influenciar positiva ou negativamente a PIVE, como o grupo genético, a categoria animal, o número de partos, a idade, a fase do ciclo estral, o estado nutricional, a

sanidade e a sazonalidade.

Sendo assim, objetivou-se com esse estudo discutir os principais fatores e desafios que afetam a PIVE em bovinos, sem contudo esgotar a literatura disponível sobre o assunto.

DESENVOLVIMENTO

Efeito da raça da doadora na PIVE

Em análise retroativa, o melhoramento genético de bovinos tem focado na produção, porém agora a preocupação está se voltando para o surgimento de “doenças de produção” e aspectos reprodutivos, até então afetados (O’NEILL et al., 2010).

Animais de raças taurinas tendem a ser mais produtivos que os de raças zebuínas, tanto na produção de leite quanto na de carne, devido a histórica seleção genética. Todavia os animais de origem zebuína têm despertado interesse dos produtores, devido sua adaptabilidade às condições oferecidas, tanto para produzir leite quanto carne, que na grande maioria, são condições desfavoráveis, baseadas em climas quentes, pastagens pobres e presença de parasitas (PONTES et al., 2011).

Contudo, animais de origem taurina e zebuína sob as mesmas condições ambientais e de nutrição, demonstram representativa diferença nas concentrações hormonais e função ovariana (SARTORI et al., 2016). Andrade et al. (2012), analisando os fatores que afetam a taxa de gestação de embriões oriundos de doadoras da raça Nelore e Senepol, denotam que tanto o genótipo do embrião, quanto a sua qualidade, não influenciou o número de gestações.

Vacas *Bos indicus* apresentam maior produção total de oócitos, oócitos viáveis e ainda melhor índice de qualidade dos oócitos, quando comparadas a vacas *Bos taurus*, o que deve explicar também, a maior taxa de clivagem dos gametas observada nesses animais (SALES et al., 2015).

Watanabe et al. (2017) constataram que fêmeas zebuínas (Nelore e Gir), geraram maior número de oócitos recuperados através da OPU do que taurinas (Senepol e Holandês), e acrescentaram que nas épocas do outono e inverno, animais Senepol apresentaram menor taxa de blastocistos, possivelmente pela disponibilidade e qualidade do alimento nestas épocas do ano. No entanto, fêmeas Holandês tiveram menor taxa de blastocistos no verão, possivelmente devido ao stress térmico sofrido nos meses mais quentes.

Vacas mestiças (*Bos indicus* x *Bos taurus*) também têm sido objeto de estudo, visto a propagação destes cruzamentos, principalmente no gado leiteiro, para formação do girolando, que apresentaram desempenho na PIVE superior a fêmeas Holandês, e semelhante a fêmeas Gir (GRÁZIA et al., 2016).

Outro ponto relevante, e diretamente relacionado ao desempenho de doadoras em programas PIVE é a dosagem sérica de fator de crescimento denominado hormônio antimulleriano (AMH), que tem sido um indicador do número de folículos antrais ovarianos em várias espécies, principalmente em bovinos (GHANEM et al., 2016). Batista et al. (2014) evidenciaram que novilhas *Bos indicus* apresentaram concentração plasmática de AMH maior que fêmeas *Bos taurus*, maior número de folículos antrais ovarianos, sendo possível indicador da superioridade no desempenho reprodutivo das fêmeas zebuínas.

Efeito da nutrição da doadora na PIVE

O fator nutricional está intimamente ligado com o desempenho reprodutivo de

bovinos, afetando diretamente o metabolismo e a fisiologia dos animais, sendo que vacas que possuem escore de condição corporal (ECC) mais alto apresentam melhor desempenho reprodutivo (TORRES et al., 2015; FERREIRA et al., 2013). Ainda, animais perdendo peso, ou no chamado balanço energético negativo, apresentam piores taxas de concepção (BEDERE et al., 2018).

No entanto, vacas com ECC maior ou igual a 4,5, podem apresentar maior período de dias em aberto (dias entre o parto e a concepção) do que os animais com ECC menor que quatro. Animais com ECC alto podem ter casuística mais elevada de cistos ovarianos, sendo assim, o excesso de peso afeta negativamente o desempenho reprodutivo dos animais (STADNIK et al., 2017). Em programas de PIVE, vacas com ECC médio (escore 3) apresentam maior produção média de oócitos viáveis que animais com estado nutricional baixo (escore 1-2) e que animais obesos (escore 4-5) (KOUAMO et al., 2014).

Avaliando-se o fornecimento de nutrição altamente energética em detrimento de nutrição que corresponda apenas a manutenção dos animais, Sales et al. (2015) não encontraram diferença, tanto em qualidade como em quantidade de oócitos. No entanto, Chrenek et al. (2014) demonstraram que vacas de melhor ECC apresentaram maior porcentagem de oócitos de boa qualidade na OPU, porém as taxas de clivagem e de blastocistos foram semelhantes, levando-os a afirmarem que a PIVE é capaz de mascarar os efeitos do estado nutricional inadequado.

Outro fator de grande relevância, mas com poucos estudos, refere-se ao uso de antioxidantes na dieta das doadoras. Foi relatado que o selênio, quando adicionado a dieta de vacas em programa de PIVE promove maior quantidade de oócitos totais aspirados, viáveis, embriões e blastocistos expandidos, melhorando assim quantitativa e qualitativamente os resultados (MORAES et al., 2012).

Efeito do estado reprodutivo e idade da doadora na PIVE

O ciclo estral de vacas possui, em sua maioria, duas ou três ondas de crescimento folicular (D'ENJOY et al., 2012), podendo variar de uma a quatro ondas (BORGES et al., 2001). A principal estrutura ovariana, que pode ser usada para classificar a fase do ciclo estral de uma fêmea bovina é o corpo lúteo, responsável pela liberação de progesterona (P4) que pode corresponder a uma fase do ciclo estral ou a gestação (PENITENTE-FILHO et al., 2014), afetando a função ovariana e o crescimento folicular, e, conseqüentemente, interferindo na quantidade e qualidade de oócitos para PIVE (PFEIFER et al., 2009).

A presença de folículo(s) dominante(s) (FD) influencia diretamente a dinâmica ovariana. O(s) FD(s) liberam estradiol, hormônio responsável pela manifestação das características estrais, além de outras substâncias, como a folistatina, ativina e principalmente a inibina, que atua inibindo o Hormônio Folículo Estimulante (FSH), necessário para o crescimento de folículos menores, promovendo assim a atresia desses folículos (SHABANKAREH et al., 2015; PENITENTE-FILHO et al., 2014; PIRESTANI et al., 2011).

Para animais que vão passar pela OPU, é desejável que se encontrem na fase luteínica, uma vez que o ovário vai possuir folículos de vários tamanhos, e em diversas fases de crescimento, diferentemente de animais na fase folicular, cujos ovários, na presença de um folículo muito grande ou dominante, os outros folículos já sofreram ou estão sofrendo atresia (REIS et al., 2006).

No entanto, a literatura ainda é controversa no que diz respeito aos efeitos da presença do corpo lúteo no ovário de fêmeas bovinas submetidas a PIVE. Batista et al. (2016) relataram que a presença do corpo lúteo não influenciou a qualidade de

oócitos imaturos, do ponto de vista nuclear e morfológico. De forma semelhante, Santos et al. (2017) relataram que a presença do corpo lúteo não influenciou a qualidade morfológica, e a adição de corante ACB para detecção de oócitos competentes e em fase de crescimento, exceto quando a fêmea encontrava-se gestante, resultou em melhor qualidade de oócitos. Contudo Kouamo et al. (2014) demonstram que fêmeas não gestantes, com ECC 3, e ovários grandes, apresentaram melhores resultados na PIVE, reforçando que são vários fatores associados que podem influenciar o desempenho de doadoras.

A inclusão de fêmeas pré-púberes em programas de PIVE, representa um grande salto, pela redução significativa do intervalo de gerações, acelerando o melhoramento genético (LANDRY et al., 2018). No entanto, fêmeas jovens possuem pior desempenho, principalmente na taxa de clivagem e de formação de blastocistos, embora possuam número de oócitos recuperados, em comparação a fêmeas púberes (LANDRY et al., 2016).

Fêmeas pré púberes não possuem produção plena de hormônios ligados a reprodução, sendo principalmente baixos níveis de FSH e Hormônio Luteinizante (LH), por não estarem capacitadas a reproduzir, pela idade e estatura, sendo então recomendado a administração destes hormônios, ou seus análogos, para melhorar os resultados da PIVE (BERNAL et al., 2011).

Com o avanço da idade em fêmeas pré-púberes observa-se diminuição do número de oócitos recuperados na OPU, porém observa-se maior qualidade oocitária, resultando em melhores taxas de clivagem e blastocistos, denotando que fêmeas muito jovens não são capazes de sustentar folículos maiores devido a menor capacidade de liberação de LH (CURRIN et al., 2017; LANDRY et al., 2016).

O avançar da idade, bem como o número de partos, também podem afetar a PIVE, onde fêmeas com idade média e menor número de partos apresentam melhores resultados, tanto em quantidade, quanto em qualidade quando comparadas com fêmeas jovens. Esses aspectos podem ser explicados pelas fêmeas atingirem o máximo desempenho reprodutivo, e não se desgastam com múltiplas gestações (JIN et al., 2016).

Contudo, fêmeas, principalmente doadoras de embrião, podem permanecer por vários anos no rebanho, devido seu alto valor zootécnico, e a medida que atingem a senilidade (mais de 15 anos de idade), passam a ter desempenho muito abaixo de fêmeas jovens e de média idade. Essas fêmeas senis, além de produzirem menor número de oócitos na OPU, também resultam em menor taxa de blastocistos, devendo-se então, avaliar a viabilidade de se manter vacas por muito tempo no rebanho (SU et al., 2012).

Efeito da estimulação hormonal e número de sessões de OPU na PIVE

Na OPU são aspirados folículos de vários tamanhos, a fim de obter o maior número possível de oócitos, e conseqüentemente maior número final de embriões (CASTILHO et al., 2007).

Para a PIVE, é interessante que os oócitos sejam advindos de folículos maiores do que muito pequenos, pela maior capacidade de se desenvolver e formar um embrião, tornar-se capaz de clivar e ser cultivado, formando um embrião apto a ser transferido, resultando em gestação. Folículos maiores apresentam maior quantidade de mRNA que está ligado a regulação do ciclo celular e a transcrição genética, permitindo a não utilização de hormônios gonadotróficos para obtenção de folículos de maiores tamanhos no momento da OPU (VIEIRA et al., 2014). No entanto, há a possibilidade de se sincronizar a onda de crescimento folicular para

realizar a coleta dos oócitos em um melhor momento, através da utilização de hormônios gonadotróficos (SILVA et al., 2017) ou esteróides, para indução de nova (CAVALIERI et al., 2018).

Pode-se então, optar para zerar a onda de crescimento folicular, através da administração de progestágeno e estradiol (dia zero), podendo ser feito em dia aleatório do ciclo estral (CAVALIERI et al., 2018; SILVA et al., 2017; VIEIRA et al., 2016; VIEIRA et al., 2014). Dessa forma, nova onda de crescimento folicular deve emergir aproximadamente oito dias após, que pode se iniciar a aplicação de um hormônio gonadotrófico sendo principalmente o FSH (VIEIRA et al., 2016). No entanto, a aplicação de FSH também pode ser iniciada no dia três ou quatro, em doses decrescentes (SILVA et al., 2017).

Silva et al. (2017) relataram que a estimulação pelo FSH foi eficiente em promover o crescimento de folículos antrais, porém não teve efeito positivo NA quantidade e qualidade de oócitos. No entanto, Vieira et al. (2016) e Vieira et al. (2014), defendem que os protocolos culminam em efeitos positivos na PIVE.

O intervalo entre as sessões de OPU, juntamente com o número de sessões realizadas por doadora, são fatores de grande relevância, pois a perfuração dos ovários gera várias lesões, que pode culminar com a diminuição do número de folículos e de oócitos, como descrito por Gimenes et al. (2015) ao efetuarem seis sessões de OPU com intervalo de 14 dias.

Monteiro et al. (2017) relataram que fêmeas alta produtora de oócitos apresentariam, maior risco de danos aos ovários devido ao maior número de perfurações que sofrem, porém acrescentou que a medida da diminuição do número de oócitos observou-se aumento na quantidade de blastocistos por OPU.

Efeito do reprodutor na PIVE

Para que haja fecundação durante a PIVE, múltiplas qualidades inerentes aos oócitos são necessárias, porém nas últimas duas décadas, o uso das técnicas de reprodução assistida, deram um suporte inicial para o conceito da contribuição paterna para fecundação defeituosa e embriogênese anormal (SANTOS, 2014). Destacando o espermatozoide como veículo de entrega do complemento genético paterno para o oócito crucial para a embriogênese (BARROSO et al., 2009).

Cummins (2001) relatou que a contribuição do espermatozoide para a PIVE é muito maior do que somente o seu DNA. Barroso et al. (2009) relataram que o espermatozoide apto a fecundação é essencial para contribuição de pelo menos três elementos: o genoma haplóide paterno, a sinalização para iniciar a ativação metabólica do oócito (incluindo a tradução do RNA), e o centríolo, capaz de direcionar a montagem dos microtúbulos, conduzindo a formação do fuso mitótico durante a evolução inicial do zigoto.

Um dos principais aspectos a se atentar durante a PIVE, em relação aos espermatozoides, é a capacitação, pois em condições fisiológicas, os espermatozoides, obrigatoriamente, sofrem esse processo durante a passagem pelo trato genital da fêmea, para se tornarem capazes de fecundar o oócito (GORDON, 2003). O processo de capacitação natural se dá pela ação de componentes presentes na tuba uterina, como os glicosaminoglicanos, que induzirão mudanças no espermatozoide. Na PIVE, torna-se necessário optar pelo uso de substâncias capazes de capacitar o espermatozoide *in vitro*, como a heparina (VARAGO et al., 2017).

Foi evidenciado que a presença de parâmetros espermáticos anormais, muitas vezes decorrentes do estresse oxidativo, resultam em falha ou atraso na

fecundação e/ou desenvolvimento embrionário anormal (BARROSO et al., 2006). O espermatozoide mesmo quando danificado pode ser capaz de fertilizar um oócito, mas a qualidade do embrião pode ser comprometida (FERNANDEZ-GONZALEZ et al., 2008).

Fatehi et al. (2006), ao investigarem os efeitos de espermatozoides com danos no DNA no desenvolvimento embrionário, sugeriram que durante a expressão gênica embrionária em estádios iniciais de desenvolvimento (estádio de quatro a oito células) afetam o mecanismo da apoptose do embrião, e através do bloqueio da mitose, interrompem o avanço no desenvolvimento embrionário.

Prováveis alterações embrionárias com relação paterna são avaliados de forma inicial e tardia, sendo o efeito paterno inicial é feito através do diagnóstico baseado na baixa qualidade morfológica de um zigoto ou do embrião, e na baixa velocidade de clivagem, não estando associado à fragmentação do DNA (SANTOS, 2014). Já o efeito paterno tardio, de outra forma, é manifestado pela baixa competência de desenvolvimento, ocasionando falhas na implantação, e isto está associado ao aumento da incidência de fragmentação de DNA na ausência de alterações morfológicas em zigotos e embriões nos primeiros estádios de clivagem (TESARIK, 2005).

O uso de sêmen criopreservado é indispensável para a PIVE, e durante a congelamento é imprescindível sua diluição. Diluidores são utilizados com a finalidade de proteger os espermatozoides, oferecendo condições mínimas de sobrevivência e capacitação para que ocorra a fertilização (PRADO et al., 2012). Fazendo-se necessário avaliar a proteção e a viabilidade oferecida aos espermatozoides bovinos utilizando diluidores diferentes, como os compostos por proteína vegetal (extrato de soja) ou proteína animal (gema de ovo ou leite), objetivando o melhor desempenho frente a fertilização *in vitro* (AMARAL et al., 2016).

Dentro do sêmen criopreservado, a utilização da sexagem também é uma variável presente na PIVE, sendo o uso dessa tecnologia de grande valia quando associada a outras biotecnologias reprodutivas, pois possibilita que muitos oócitos sejam fertilizados por um número reduzido de espermatozoides em um curto período, otimizando os programas de melhoramento genético animal (SERAFIM et al., 2018). Araújo et al. (2014) relataram que a fertilização *in vitro* torna-se a alternativa mais racional para a utilização comercial do sêmen sexado, levando em conta o reduzido número de espermatozoides disponíveis nas doses sexadas.

Embora a técnica de sexagem espermática por citometria de fluxo tenha garantido maior eficiência quanto a produção de bovinos, estudos com sêmen sexado tem demonstrado que a taxa de concepção com esse tipo de material pode ser inferior comparando-a ao sêmen convencional (De VRIES et al., 2008). Devido a esse fator, Serafim et al. (2018) destacaram que os reprodutores devem ser selecionados avaliando não apenas o potencial de produção de espermatozoides, mas também pela susceptibilidade de suas células espermáticas resistirem à citometria de fluxo, tendo em vista que a taxa de formação de blastocistos e fertilidade dos embriões produzidos *in vitro* sofrem influência individual de touros, cujo material genético é designado para sexagem.

Outro procedimento utilizando sêmen criopreservado é a injeção intracitoplasmática de espermatozoides, que tem sido amplamente aplicada no estudo de fertilização de mamíferos na PIVE, mas o sucesso no desenvolvimento de embriões é relativamente baixo, sendo o sucesso na produção por micromanipulação em bovinos menor que 5% (TAYLOR et al., 2004). Devido a esses resultados insatisfatórios, Paasch et al. (2003) destacaram que, a identificação

e a separação de células espermáticas normais, funcionalmente intactas e não apoptóticas, é importante quando se preparam espermatozoides para serem usados em tecnologias de reprodução assistida de baixa e alta complexidade, como a PIVE.

Efeito do transporte e meios de cultivo na PIVE

Tendo em vista a disseminação da utilização da PIVE, alguns produtores podem estar distantes de um laboratório, o que não impede, na prática, as empresas irem até esses produtores prestarem seus serviços (LOIOLA et al., 2014). Porém o tempo despendido no transporte dos oócitos, da fazenda para o laboratório e dos embriões no caminho inverso, pode trazer prejuízos a viabilidade, requerendo técnica especializada para transportar os embriões, exigindo meio de cultivo e atmosfera controlada com 5% de O₂, 5% de CO₂ e 90% de N₂ (CAVALIERI et al., 2015).

Tanto Cavalieri et al, (2015), simulando o transporte de embriões por até 48 horas, quanto Loiola et al. (2014), analisando o transporte por 2000 km entre a fazenda e o laboratório, evidenciaram que não houve efeitos negativos do transporte por longo trajetos ou por várias horas, validando assim os programas de PIVE mesmo para produtores que se encontram distantes dos laboratórios. Para a PIVE, vários processos e fatores laboratoriais são levados em conta, como temperatura, atmosfera e meios de cultivo (BERNAL et al., 2011).

O meio de maturação é utilizado para tornar o oócito capaz de se desenvolver e ser fertilizado por um único espermatozóide, sua composição deve mimetizar os componentes do fluido folicular e a ocorrência de eventos *in vivo*, como o pico de LH pré-ovulatório (CHAVES et al., 2010).

Albuz et al. (2010) descreveram o desenvolvimento de uma nova técnica de maturação de oócitos, chamada de Simulação Fisiológica de Maturação de Oócitos (SPOM), tornando o processo *in vitro* o mais próximo possível do que ocorre *in vivo*, e encontraram ótimos resultado em sua utilização.

Outro fator relevante, e relacionado a composição dos meios de cultivo, é o stress oxidativo sofrido pelos embriões, sendo que várias substâncias antioxidantes têm sido estudadas para compor os meios, como a quercetina, cisteamina (GUEMRA et al., 2013) e a N,N-dimetilglicina (DMG) (TAKAHASHI et al., 2016).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A PIVE é uma biotécnica de utilização práticas para os produtores, apresenta resultados relevantes e se mostra em expansão. No entanto, é necessário a compreensão de todos os fatores que possam influenciar os resultados, visando a melhoria progressiva deles. No entanto, estudos complementares e abrangentes precisam ser realizados de maneira contínua, visando a elaboração de novas estratégias capazes de incrementar os resultados atuais.

REFERÊNCIAS

ALBUZ, F. K.; SASSEVILLE, M.; LANE, M.; ARMSTRONG, D. T.; THOMPSON, J. G.; et al. Simulated physiological oocyte maturation (SPOM): a novel *in vitro* maturation system that substantially improves embryo yield and pregnancy outcomes. **Human Reproduction**, v. 25, n. 12, p. 2999-3011, 2010. Disponível em: <<https://academic.oup.com/humrep/article/25/12/2999/550764>>. doi: 10.1093/humrep/deq246.

AMARAL, T. N.; SANTOS, K. J. G.; SANTOS, A. P. P.; LOPES, J. C. S.; RAMOS, P. H. S.; et al. Avaliação da produção in vitro embriões a partir de espermatozoides frescos e congelados. **Anais do Congresso de Ensino, Pesquisa e Extensão da UEG (CEPE)**, v. 3, p. 1-4, 2016. Disponível em: <<http://www.anais.ueg.br/index.php/cepe/article/view/8317/5776>>.

ANDRADE, G. A.; FERNANDES, M. A.; KNYCHALA, R. M.; PEREIRA JUNIOR, M. V., OLIVEIRA, A. J.; NUNES, D. P.; BONATO, G. L.; SANTOS, R. M. Fatores que afetam a taxa de prenhez de receptoras de embriões bovinos produzidos in vitro. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 36, n. 1, p. 66-69, 2012. Disponível em: <<http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v36n1/pag66-69.pdf>>.

ARAUJO, M. S.; VOLPATO, R.; LOPES, M. D. Produção de embriões bovinos in vitro com sêmen sexado. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 11, n. 3, p. 8-15, 2014. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/141300>>.

BARROSO, G.; TAYLOR, S.; MORSHEDI, M.; MANZUR, F.; GAVIÑO, F.; et al. Mitochondrial membrane potential integrity and plasma membrane translocation of phosphatidylcholine as early apoptotic markers: a comparison of two different sperm sub-population. **Fertility and Sterility**, v. 85, p. 149-154, 2006. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0015028205034138?via%3Dihub>>. doi: 10.1016/j.fertnstert.2005.06.046.

BARROSO, G.; VALDESPIN, C.; VEGA, E.; KERSHENOVICH, R.; AVILA, R.; et al. Developmental sperm contributions: fertilization and beyond. **Fertility and Sterility**, v. 92, p. 835-848, 2009. Disponível em: <[https://www.fertstert.org/article/S0015-0282\(09\)01351-X/fulltext](https://www.fertstert.org/article/S0015-0282(09)01351-X/fulltext)>. doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.06.030.

BATISTA, E. O. S.; MACEDO, G. G.; SALA, R. V.; SÁ FILHO, M. F.; DEL VALLE, T. A.; et al. Plasma Antimüllerian Hormone as a Predictor of Ovarian Antral Follicular Population in *Bos indicus* (Nelore) and *Bos taurus* (Holstein) Heifers. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 49, n. 3, p. 448-452, 2014. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/rda.12304>>. doi: 10.1111/rda.12304.

BATISTA, J. F.; SILVA, L. F.; LAZARI, L. P.; OLIVEIRA LEAL, M. G.; SOUZA, M. M.; et al. Avaliação morfológica e nuclear de oócitos bovinos imaturos, obtidos de ovários com e sem a presença de corpo lúteo. **Colloquium Agrariae**, v. 12, n. 2, p. 1-5, 2016. Disponível em: <<http://revistas.unoeste.br/revistas/ojs/index.php/ca/article/view/1764/1728>>. doi: 10.5747/ca.2016.v12.n2.a133.

BEDERE, N.; CUTULLIC, E.; DELABY, L.; GARCIA-LAUNAY, F.; DISENHAUS, C. Meta-analysis of the relationships between reproduction, milk yield and body condition score in dairy cows. **Livestock Science**, v. 210, p. 73-84, 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1871141318300246?via%3Dihub>>. doi: 10.1016/j.livsci.2018.01.017.

BERNAL, S.; GONELLA, A.; VALBUENA, D.; MENDONZA, R.; MOLINA, J.; CHACÓN, L. Effect of age and coasting period on oocytes quality and their *in vitro* development from prepubertal cattle. **Revista MVZ Córdoba**. Córdoba, v. 16, n. 2, p. 2499-2506, 2011. Disponível em: <http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-02682011000200007&lng=en&nrm=iso>.

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**. Bogotá, v. 53, n. 3, p. 184-194, 2009. Disponível em: <<http://bdigital.unal.edu.co/18033/1/13768-41297-1-PB.pdf>>.

BLONDIN, P. Status of embryo production in the world. **Animal Reproduction**, v. 12, n. 3, p. 356-358, 2015. Disponível em: <[http://www.cbra.org.br/portal/downloads/publicacoes/animalreproduction/issues/download/v12/v12n3/pag356-358%20\(AR765\).pdf](http://www.cbra.org.br/portal/downloads/publicacoes/animalreproduction/issues/download/v12/v12n3/pag356-358%20(AR765).pdf)>.

BORGES, A. M.; TORRES, C. A. A.; RUAS, J. R. M.; ROCHA JÚNIOR, V. R.; CARVALHO, G. R. Dinâmica folicular ovariana em novilhas mestiças Holandês-Zebu. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, n. 5, p. 595-604, 2001. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352001000500015&lng=pt&tlng=pt>. doi: 10.1590/S0102-09352001000500015.

CASTILHO, C.; ASSIS, G. S.; GARCIA, J. M. Influência do diâmetro e da fase folicular sobre a competência *in vitro* de oócitos obtidos de novilhas da raça Nelore. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 2, p. 288-294, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352007000200003&lng=pt&tlng=pt>. doi: 10.1590/S0102-09352007000200003.

CAVALIERI, F. L. B.; ANDREAZZI, M. A.; COLOMBO, A. H. B.; EMANUELLI, I. P.; MORESKI, D. A. B.; et al. Estudo Sobre o Cultivo *In Vitro* de Embriões Bovinos Durante o Transporte. **Ars Veterinaria**, v. 31, n. 1, p. 07-11, 2015. Disponível em: <<http://arsveterinaria.org.br/index.php/ars/article/view/849>>. doi: 10.15361/2175-0106.2015v31n1p07-11.

CAVALIERI, F. L. B.; MOROTTI, F.; COLOMBO, A. H. B.; ANDREAZZI, M. A.; EMANUELLI, I. P.; et al. Improvement of bovine *in vitro* embryo production by ovarian follicular wave synchronization prior to ovum pick-up. **Theriogenology**, v. 117, p. 57-60, 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X17305678?via%3Dihub>>. doi: 10.1016/j.theriogenology.2017.11.026.

CHAVES, R. N.; DUARTE, A. B. G.; MATOS, M. H. T.; FIGUEIREDO, J. R. Sistemas de cultivo *in vitro* para o desenvolvimento de oócitos imaturos de mamíferos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. Belo Horizonte, v. 34, n. 1, p. 37-49, 2010. Disponível em: <<http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v34n1/p37-49.pdf>>.

CHRENEK, P.; KUBOVICOVA, E.; OLEXÍCOVÁ, L.; MAKAREVICH, A. V.; TOPORCEROVÁ, S.; OSTRÓ, A. Effect of body condition and season on yield and

quality of *in vitro* produced bovine embryos. **Zygote**, v. 23, n. 6, p. 893-899, 2014. Disponível em: <<https://www.cambridge.org/core/journals/zygote/article/effect-of-body-condition-and-season-on-yield-and-quality-of-in-vitro-produced-bovine-embryos/F154C1F85A38EF72F132638442685CC5>>. doi: 10.1017/S0967199414000604.

CUMMINS, J.M. Cytoplasmic inheritance and this implications for animal biotechnology. **Theriogenology**, v. 55, p. 1381-1399, 2001. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X01004897?via%3Dihub>>. doi: 10.1016/S0093-691X(01)00489-7.

CURRIN, L.; MICHALOVIC, L.; BELLEFLEUR, A. M.; GUTIERREZ, K.; GLANZNER, W.; et al. The effect of age and length of gonadotropin stimulation on the *in vitro* embryo development of Holstein calf oocytes. **Theriogenology**, v. 104, p. 87-93, 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X17303965?via%3Dihub>>. doi: 10.1016/j.theriogenology.2017.08.011.

De VRIES, A.; OVERTON, M.; FETROW, J.; LESLIE, K.; EICKER, S.; ROGERS, G. Exploring the impact of sexed semen on the structure of the dairy industry. **Journal Dairy Science**, v. 91, n. 2, p. 847-856, 2008. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030208714292?via%3Dihub>>. doi: 10.3168/jds.2007-0536.

D'ENJOY, D.; CABRERA, P.; VIVAS, I.; DÍAS, T. Dinámica Folicular Ovárica Durante el Ciclo Estral en Vacas Brahman. **Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias**. Venezuela, v. 53, n. 1, p. 39-47, 2012. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=373139079005>>.

FATEHI, A. N.; BEVERS, M. M.; SCHOEVERS, E.; ROELEN, B. A. J.; COLENBRANDER, B.; et al. Damage in bovine sperm does not block fertilization and early embryonic development but induces apoptosis after the first cleavages. **Journal of Andrology**, v. 27, p. 176-188, 2006. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.2164/jandrol.04152>>. doi: 10.2164/jandrol.04152.

FERNANDÉZ-GONZALEZ, R.; MOREIRA, P. N.; PÉREZ-CRESPO, M.; SÁNCHEZ-MARTÍN, M.; RAMIREZ, M. A.; et al. Long-term effects of mouse intracytoplasmic sperm injection with dna-fragmented sperm on health and behavior of adult offspring. **Biology of Reproduction**, v. 78, p. 761-772, 2008. Disponível em: <<https://academic.oup.com/biolreprod/article/78/4/761/2629892>>. doi: 10.1095/biolreprod.107.065623.

FERREIRA, M. C. N.; MIRANDA, R.; FIGUEIREDE, M. A.; COSTA, O. M.; PALHANO, H. B. Impacto da condição corporal sobre a taxa de prenhez de vacas da raça nelore sob regime de pasto em programa de inseminação artificial em tempo fixo (iatf). **Ciências Agrárias**. Londrina, v. 34, n. 4, p. 1861-1868, 2013. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/html/4457/445744122032/>>. doi: 10.5433/1679-0359.2013v34n4p1861.

GHANEM, N.; JIN, J. I.; KIM, S. S.; CHOI, B. H.; LEE, K. L.; HA, N. A.; et al. The

AntiMüllerian Hormone Profile is Linked with the *In Vitro* Embryo Production Capacity and Embryo Viability after Transfer but Cannot Predict Pregnancy Outcome. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 51, n. 2, p. 301-310, 2016. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/rda.12681>>. doi: 10.1111/rda.12681.

GIMENES, L. U.; FERRAZ, M. L.; FANTINATO-NETO, P.; CHIARATTI, M. R.; MESQUITA, L. G.; et al. The interval between the emergence of pharmacologically synchronized ovarian follicular waves and ovum pickup does not significantly affect *in vitro* embryo production in *Bos indicus*, *Bos taurus*, and *Bubalus bubalis*. **Theriogenology**, v. 83, n. 3, p. 385-393, 2015. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X14005391?via%3Dihub>>. doi: 10.1016/j.theriogenology.2014.09.030.

GORDON I. Oocyte recovery and maturation. In: **GORDON I. Laboratory production of cattle embryos. 2nd ed.** London: CAB International, p.30-65, 2003.

GRÁZIA, J. G. V.; SILVEIRA, R. O.; PEREIRA, E. C. M.; SANTOS, G. M. Desempenho de doadoras leiteiras mestiças F1 (Gir x Holandês) no sistema de produção *in vitro* de embriões. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 68, n. 3, p. 605-610, 2016. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352016000300605&lng=pt&tlng=pt>. doi: 10.1590/1678-4162-8317.

JIN, J. I.; GANHEM, N.; KIN, S. S.; CHOI, B. H.; HA, A. N.; et al. Interaction of donor age, parity and repeated recovery of cumulus–oocyte complexes by ovum pick-up on *in vitro* embryo production and viability after transfer. **Livestock Science**, v. 188, p. 43-47, 2016. Disponível em: <[https://www.livestockscience.com/article/S1871-1413\(16\)30054-3/fulltext](https://www.livestockscience.com/article/S1871-1413(16)30054-3/fulltext)>. doi: 10.1016/j.livsci.2016.04.002.

KADARMIDEEN, H. N.; MAZZONI, G.; WATANABE, Y. F.; STROBECH, L.; BARUSELLI, P. S.; et al. Seleção genômica de embriões produzidos *in vitro* e por transferência nuclear de células somáticas para a aceleração do melhoramento genético na produção bovina. **Anais da XXIX Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões**. p. 67-75, 2015. Disponível em: <<http://www.sbte.org.br/arquivos/anais/anais-2015.pdf>>.

KOUAMO, J.; DAWAYE, S. M.; ZOLI, A. P.; BAH, G. S. Evaluation of bovine (*Bos indicus*) ovarian potential for *in vitro* embryo production in the Adamawa plateau (Cameroon). **Open Veterinary Journal**. v. 4, p. 128–136, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC26623353/>>. doi:

LANDRY, D. A.; BELLEFLEUR, A. M.; LABRECQUE, R.; GRAND, F. X.; VIGNEAULT, C.; et al. Effect of cow age on the *in vitro* developmental competence of oocytes obtained after FSH stimulation and coasting treatments. **Theriogenology**, v. 86, n. 5, p. 1240-1246, 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X16301030?via%3Dihub>>. doi: 10.1016/j.theriogenology.2016.04.064.

LANDRY, D. A.; ROSSI-PERAZZA, L.; LAFONTAINE, S.; SIRARD, M. A. Expression of atresia biomarkers in granulosa cells after ovarian stimulation in heifers. **Reproduction**, v. 156, n. 3, p. 239-248, 2018. Disponível em: <<https://rep.bioscientifica.com/view/journals/rep/156/3/REP-18-0186.xml#bib18>>. doi: 10.1530/REP-18-0186.

LOIOLA, M. V. G.; CHALHOUB, M.; RODRIGUES, A. S.; FERRAZ, P. A.; BITTENCOURT, R. F.; 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**. Goiânia, v. 15, n. 1, p. 93-101, 2014. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cab/v15n1/12.pdf>>. doi: 10.5216/cab.v15i1.23327>.

MELLO, R. R. C.; FERREIRA, J. E.; SOUSA, S. L. G.; MELLO, M. R. B.; PALHANO, H. B. Fatores ligados à doadora que influenciam na produção de embriões in vitro (PIVE). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. Belo Horizonte, v. 40, n. 2, p. 51-57, 2016b. Disponível em: <[http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v40/n2/p51-57%20\(RB604\).pdf](http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v40/n2/p51-57%20(RB604).pdf)>.

MELLO, R. R. C.; FERREIRA, J. E.; SOUSA, S. L. G.; MELLO, M. R. B.; PALHANO, H. B. Produção in vitro (PIV) de embriões em bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. Belo Horizonte, v. 40, n. 2, p. 58-64, 2016a. Disponível em: <[http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v40/n2/p58-64%20\(RB602\).pdf](http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v40/n2/p58-64%20(RB602).pdf)>.

MONTEIRO, F. M.; BATISTA, E. O. S.; VIEIRA, L. M.; BAYEUX, B. M.; ACCORSI, M.; et al. Beef donor cows with high number of retrieved COC produce more *in vitro* embryos compared with cows with low number of COC after repeated ovum pick-up sessions. **Theriogenology**, v. 90, p. 54-58, 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X16305350?via%3Dihub>>. doi: 10.1016/j.theriogenology.2016.11.002.

MORAES, G. V.; AZEVEDO, J. R.; CARNEIRO, T. C.; CAVALIERI, F. L. B.; MATAVELI, M.; et al. Oocyte aspiration and in vitro embryo production in Jersey cows with selenium-supplemented diet. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v. 64, n. 3, p. 787-795, 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352012000400001>. doi: 10.1590/S0102-09352012000400001.

O'NEILL, C. J.; SWAIN, D. L.; KADARMIDEEN, H. N. Evolutionary process of *Bos taurus* cattle in favourable versus unfavourable environments and its implications for genetic selection. **Evolutionary Applications**, v. 3, n. 5-6, p. 422-423, 2010. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1752-4571.2010.00151.x>>. doi: 10.1111/j.1752-4571.2010.00151.x.

PAASCH, U.; GRUNEWALD, S.; FITZL, G.; GLANDER, H. J. Glander Deterioration of plasma membrane is associated with activated caspases in human spermatozoa. **Journal of Andrology**, v. 24, p. 246-252, 2003. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/j.1939-4640.2003.tb02669.x>>. doi: 10.1002/j.1939-4640.2003.tb02669.x.

PENITENTE-FILHO, J. M.; CARRASCAL, E.; OLIVEIRA, F. A.; ZOLINI, A. M.;

OLIVEIRA, C. T.; et al. Influence of Dominant Follicle and Corpus luteum on Recovery of Good Quality Oocytes for *In vitro* Embryo Production in Cattle. **British Biotechnology Journal**, v. 4, n. 12, p. 1305-1312, 2014. Disponível em: <http://www.journalrepository.org/media/journals/BBJ_11/2014/Nov/Penitente-Filho4122014BBJ13829_1.pdf>. doi: 10.9734/BBJ/2014/13829.

PFEIFER, L. F. M.; SARTORI, R.; PIVATO, I.; RUMPF, R.; NOGUEIRA, G. P.; et al. Effect of circulating progesterone on in vitro developmental competence of bovine oocytes. **Animal Reproduction**, v. 6, n. 3, p. 473-480, 2009. Disponível em: <<http://www.cbpa.org.br/portal/downloads/publicacoes/animalreproduction/issues/download/v6n3/AR301%20Pfeifer%20pag473-480.pdf>>.

PIRESTANI, A.; HOSSEINI, S. M.; HAJIAN, M.; FOROUZANFAR, M.; MOULAVI, F.; ABEDI, P. Effect of Ovarian Cyclic Status on *In Vitro* Embryo Production in Cattle. **International Journal of Fertility e Sterility**, v. 4, n. 4, p. 172-175, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4023504/>>.

PONTES, J. H. F.; MELO STERZA, F. A.; BASSO, A. C.; FERREIRA, C. R.; SANCHES, B. V.; RUBIN, K. C. P.; SENEDA, M. M. 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, n. 9, p. 1640-1646, 2011. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X11000057?via%3Dihub>>. doi: 10.1016/j.theriogenology.2010.12.026.

PRADO, R. B.; KOIVISTO, M. B.; CARREIRA, J. T.; PERRI, S. H. V.; RODRIGUES, L. H.; et al. Efeito da utilização de diferentes diluidores para a produção *in vitro* de embriões bovinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 64, n. 5, p. 1118-1126, 2012. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v64n5/v64n5a05.pdf>>. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352012000500005>.

REIS, A.; METELO, R.; SANTOS, P.; MOREIRA da SILVA, F. Efeito da estrutura ovárica e da idade de bovinos da raça Holstein Friesian na quantidade e qualidade de ovócitos e de embriões produzidos in vitro. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 43, n. 5, p. 629-636, 2006. Disponível em: <<http://www.revistas.usp.br/bjvras/article/view/26571>>. doi: 10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2006.26571.

SALES, J. N. S.; IOGUMA, L. T.; BATISTA, R. I. T. P.; QUINTÃO, C. C. R.; GAMA, M. A. S.; et al. Effects of a high-energy diet on oocyte quality and in vitro embryo production in *Bos indicus* and *Bos taurus* cows. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 5, p. 3086-3099, 2015. Disponível em: <[https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(15\)00137-X/fulltext](https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(15)00137-X/fulltext)>. doi: 10.3168/jds.2014-8858.

SANTOS, M. V. O.; QUEIROZ NETA, L. B.; BORGES, A. A.; SILVA, M. B.; PEREIRA, A. F. Influência do corpo lúteo sobre a recuperação de oócitos imaturos bovinos derivados de fêmeas *post-mortem*. **Holos**, ano 33, v. 7, p. 278-283, 2017. Disponível em: <<http://www2.ifrn.edu.br/ojs/index.php/HOLOS/article/view/5556/pdf>>.

doi: 10.15628/holos.2017.5556.

SARTORI, R. Metabolic and endocrine differences between *Bos taurus* and *Bos indicus* females that impact the interaction of nutrition with reproduction. **Theriogenology**, v. 86, n. 1, p. 32-40, 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X16300449?via%3Dihub>>. doi: 10.1016/j.theriogenology.2016.04.016.

SCANAVEZ, A. L.; CAMPOS, C. C.; SANTOS, R. M. Taxa de prenhez e de perda de gestação em receptoras de embriões bovinos produzidos in vitro. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n. 3, p. 722-728, 2013. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v65n3/17.pdf>>.

SERAFIM, P. R.; GOMES, L. P. M.; GOMES, G. M.. CRESPILO, A. M. Sêmen bovino sexado: A produção in vitro de embriões pode ser influenciada pelo touro doador do material genético? **Revista de Saúde**, v. 9, n. 1, p. 04-08, 2018. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/325916202_Semen_bovino_sexado_A_pr_oducao_in_vitro_de_embrioes_pode_ser_influenciada_pelo_touro_doador_do_mater_ial_genetico>. doi: 10.21727/rs.v9i1.1298.

SHABANKAREH, H. K.; SHAHSAVARI, M. H.; HAJARIAN, H.; MOGHADDAM, G. In vitro developmental competence of bovine oocytes: Effect of corpus luteum and follicle size. **Iranian Journal of Reproductive Medicine**, v. 13, n. 10, p. 615-622, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4668348/>>.

SILVA, A. W. L.; SELIG, P. M.; LERÍPIO, A. de A.; NETTO, M. A Sustentabilidade Agropecuária Segundo a Concepção e a Prática de Extensionistas Rurais do Oeste Catarinense. **Sistemas e Gestão**, v. 8, n. 2, p. 146-159, 2013. Disponível em: <<http://www.revistasg.uff.br/index.php/sg/article/view/V8N2A4/SGV8N2A4>>. doi: 10.7177/sg.2013.v8.n2.a4.

SILVA, J. C. B.; FERREIRA, R. M.; MATURANA FILHO, M.; NAVES, J. R.; SANTIN, T.; et al. Use of FSH in two different regimens for ovarian superstimulation prior to ovum pick up and in vitro embryo production in Holstein cows. **Theriogenology**, v. 90, p. 65-73, 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X16305568?via%3Dihub>>. doi: 10.1016/j.theriogenology.2016.11.016.

STADNIK, L.; ATASEVER, S.; DUCHÁČEK, J. Effects of body condition score and daily milk yield on reproduction traits of Czech Fleckvieh cows. **Animal Reproduction**. v.14, p.1264-1269. 2017. Disponível em: <[http://www.cbra.org.br/portal/downloads/publicacoes/animalreproduction/issues/download/v14/v14s1/p1264-1269%20\(AR944\).pdf](http://www.cbra.org.br/portal/downloads/publicacoes/animalreproduction/issues/download/v14/v14s1/p1264-1269%20(AR944).pdf)>. doi: 10.21451/1984-3143-AR944.

SU, L.; YANG, S.; HE, X.; LI, X. MA, J.; et al. Effect of Donor Age on the Developmental Competence of Bovine Oocytes Retrieved by Ovum Pick Up. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 47, n. 2, p. 184-189, 2012. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1439-0531.2009.01349.x>>. doi:

10.1111/j.1439-0531.2009.01349.x.

TAKAHASHI, T.; SASAKI, K.; SOMFAI, T.; NAGAI, T.; MANABE, N.; et al. N, N-Dimethylglycine decreases oxidative stress and improves *in vitro* development of bovine embryos. **The Journal of Reproduction and Development**, v. 62, n. 2, p. 209-212, 2016. Disponível em: <https://www.jstage.jst.go.jp/article/jrd/62/2/62_2015-149/_article>. doi: 10.1262/jrd.2015-149.

TAYLOR, S. L.; WENG, S. L.; FOX, P.; DURAN, E. H.; MORSHEDI, M. S.; et al. Somatic cell apoptosis markers and pathways in human ejaculated sperm: potential utility as indicators of sperm quality. **Molecular Human Reproduction**, v. 10, p. 825-834, 2004. Disponível em: <<https://academic.oup.com/molehr/article/10/11/825/1113207>>. doi: 10.1093/molehr/gah099.

TESARIK, J. Paternal effects on cell division in the human preimplantation embryo. **Reproduction Biomedicine Online**, v. 10, p. 226-230, 2005. Disponível em: <[https://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483\(10\)61798-1/pdf](https://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483(10)61798-1/pdf)>. doi: 10.1016/S1472-6483(10)61798-1.

TORRES, H. A. L.; TINEO, J. S. A.; RAIDAN, F. S. S. Influência do escore de condição corporal na probabilidade de prenhez em bovinos de corte. **Archivos de Zootecnia**, v. 64, n. 247, p. 255-260, 2015. Disponível em: <<http://www.uco.es/ucopress/az/index.php/az/article/view/403/382>>.

VARAGO, F. C.; SILVA, L. P.; RIBEIRO, J. P.; FERNANDES, C. A.; CARVALHO, B. C.; et al. Theophylline as a capacitating agent of bovine semen. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 69 n. 6, 2017. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352017000601607&lng=en&tlng=en>. doi: 10.1590/1678-4162-9173.

VELOSO NETO, H. F.; SILVA, J. C. F.; PEREIRA, L. C.; ANDRADE, J. C. O; MOURA, M. T.; BARTOLOMEU, C. C.; LIMA, P. F.; OLIVEIRA, M. A. L. Parâmetros que afetam a taxa de prenhez de receptoras bovinas de embriões produzidos *in vitro*. **Medicina Veterinária**. Recife, v. 8, n. 3, p. 31-35, 2014. Disponível em: <<http://www.journals.ufrpe.br/index.php/medicinaveterinaria/article/view/1188/993>>.

VIANA, J.H.M.; CAMARGO, L.S.A. A produção de embriões bovinos no Brasil: Uma nova realidade. Bovine embryo production in Brazil: A new scenario. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 35, n. 3, p. 915-924, 2007. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/actavet/35-suple-3/FINAL__ANAIS__XXI__SBTE_2007.pdf>.

VIEIRA, L. M.; RODRIGUES, C. A.; NETTO, A. C.; GUERREIRO, B. M.; SILVEIRA, C. R. A.; et al. Efficacy of a single intramuscular injection of porcine FSH in hyaluronan prior to *ovum pick-up* in Holstein cattle. **Theriogenology**, v. 85, n. 5, p. 877-886, 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X15006019?via%3Dihub>>. doi: 10.1016/j.theriogenology.2015.10.036.

VIEIRA, L. M.; RODRIGUES, C. A.; NETTO, A. C.; GUERREIRO, B. M.; SILVEIRA,

C. R. A.; et al. Superstimulation prior to the ovum pick-up to improve *in vitro* embryo production in lactating and non-lactating Holstein cows. **Theriogenology**, v. 82, n. 2, p. 318-324, 2014. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X14001927?via%3Dihub>>. doi: 10.1016/j.theriogenology.2014.04.013.

WATANABE, Y. F.; SOUZA, A. H.; MINGOTI, R. D.; FERREIRA, R. M.; SANTANA BATISTA, E. O.; et al. Number of oocytes retrieved per donor during OPU and its relationship with *in vitro* embryo production and field fertility following embryo transfer. **Animal Reproduction**, v. 14, n. 3, p. 635-644, 2017. Disponível em: <[http://www.cbpa.org.br/portal/downloads/publicacoes/animalreproduction/issues/download/v14/v14n3/p635-644%20\(AR1008\)%20SBTE.pdf](http://www.cbpa.org.br/portal/downloads/publicacoes/animalreproduction/issues/download/v14/v14n3/p635-644%20(AR1008)%20SBTE.pdf)>. doi: 10.21451/1984-3143-AR1008.