

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS
CÂMPUS OESTE, SÃO LUÍS DE MONTES BELOS
PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO ANIMAL E FORRAGICULTURA
MESTRADO PROFISSIONAL

FÁBIO ATHAIR RIBEIRO CORDEIRO

**BIOTÉCNICAS AVANÇADAS DA REPRODUÇÃO DE BOVINOS NO APL
LÁCTEO DO OESTE GOIANO**

São Luís de Montes Belos - GO

2024

FÁBIO ATHAIR RIBEIRO CORDEIRO

**BIOTÉCNICAS AVANÇADAS DA REPRODUÇÃO DE BOVINOS NO APL
LÁCTEO DO OESTE GOIANO**

Dissertação apresentada à Universidade
Estadual de Goiás Campus Oeste para obtenção
do título de Mestre em Produção Animal e
Forragicultura.

Linha de Pesquisa: Produção Animal
Orientador: Prof. Dr. Klayto José Gonçalves dos Santos

São Luís de Montes Belos - GO

2024

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UEG
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

C794b Cordeiro, Fábio Athair Ribeiro
 Biotécnicas avançadas da reprodução de bovinos no
 APL lácteo do oeste goiano. / Fábio Athair Ribeiro
 Cordeiro; orientador Klayto José Gonçalves dos Santos.
 -- São Luís de Montes Belos, 2024.
 53 p.

 Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação
 Mestrado Profissional em Produção Animal e
 Forragicultura) -- Câmpus Oeste - Sede: São Luís de
 Montes Belos, Universidade Estadual de Goiás, 2024.

 1. Embriões bovino. 2. Fecundação. 3. Folículo. 4.
 Genética. 5. Inseminação artificial. I. Santos, Klayto
 José Gonçalves dos, orient. II. Título.

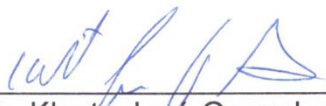
FABIO ATHAIR RIBEIRO CORDEIRO

**BIOTÉCNICAS AVANÇADAS DA REPRODUÇÃO DE BOVINOS NO APL LÁCTEO
DO OESTE GOIANO**

Dissertação apresentada à Universidade
Estadual de Goiás – Câmpus Oeste, para
a obtenção do título de Mestre em
Produção Animal e Forragicultura.

Aprovado em: 15 de maio de 2017.

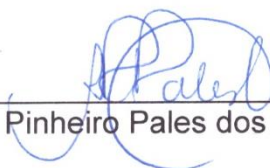
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Klayto José Gonçalves dos Santos – UEG



Profa. Dra. Sâmara Cristine Costa Pinto - UniBrasília



Profa. Dra. Aracele Pinheiro Pales dos Santos – UEG

Aos meus pais Antônio José Cordeiro e Inis de Fátima Ribeiro Cordeiro pelo apoio incondicional, amor atribuído a mim, pela educação recebida e pela compreensão nos momentos ausentes.

À minhas irmãs, Aracelle Lamarquiane Cordeiro e Sannielle Ribeiro Cordeiro, meus sobrinhos Luís Otávio, Maria Luísa, Maria Fernanda e Júlia, meu cunhado Leonardo que o amor que tenho por eles serviu de incentivo para continuar buscando o melhor caminho.

A minha namorada, Carolina Nunes de Souza pelo apoio, por saber ouvir e entender os momentos de dificuldade, mas, que sempre apoiou, incentivou e acreditou em mim e em toda minha trajetória durante o mestrado.

Dedico, com muito amor e carinho!

Ao meu orientador e amigo Prof. Dr. Klayto José Gonçalves dos Santos. Minha admiração pelo profissional de tão elevada capacidade, a quem devo a oportunidade de grandes ensinamentos na reprodução animal e o aguçamento para pesquisa científica. Minha gratidão pela acolhida no Centro de Biotecnologia em Reprodução Animal (BIOTEC), desta instituição, e por fornecer subsídios para meu desenvolvimento profissional. Meu respeito, pelo ser humano grandioso.

“A tarefa não é tanto ver aquilo que
ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda
pensou sobre aquilo que todo mundo vê.”
(Arthur Schopenhauer)

“Se eu vi mais longe, foi por estar de
pé sobre ombros de gigantes.”
(Isaac Newton)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e a Nossa Senhora Aparecida pela vida, pelas bênçãos concedidas a mim, a minha família, por me mostrar sempre o caminho do bem. Agradeço pela saúde, pela força e pela perseverança.

A equipe do BIOTEC.

MSc. Patrícia Fernanda Peixer e Joice Kelly Rodrigues da Silva pelo grande auxílio durante o desenvolvimento profissional do meu aperfeiçoamento na aspiração folicular.

A Dr. Sâmara Cristine Costa Pinto, pelos ensinamentos e aperfeiçoamento na colheita e processamento de sêmen bovino e também pelo incentivo e parceria na pesquisa científica.

A Ana Carla Cavalcante, pela atenção e cooperação com os projetos iniciados no BIOTEC, pela paciência em marcar agenda e solicitar carro para que os projetos se realizem.

Aos estagiários que passaram pelo BIOTEC e que, de alguma forma, deixaram sua contribuição profissional e um laço de amizade de valor imensurável André, Alex, Arthur, Célia Neta, Gabriel, Jhonata, Karina, Kelita, Ketly, Leandro, Lucas, Marco Aurélio, Matheus, Pedro, Samuel e muitos outros.

Aos funcionários da Fazenda Escola da UEG, com os quais convívio foi sempre respeitoso.

A professora Dr. Aracelle Santos pela amizade, pela parceria e dedicação com a Fazenda Escola.

Aos professores Msc. Livia de Paula Coelho e Dr. Rodrigo de Andrade Ferraza pela parceria e pela amizade.

Aos meus amigos Matheus, Dienes, Wagner, Sara, Eduardo, Deane, Núria, Lucas e muitos outros do convívio do dia a dia, do esporte e muitos outros.

Aos meus amigos de Minas Gerais Luiz Fernando, Tarcísio, José Ribeiro, Ana Paula, André e muitos outros.

A minha madrinha Patrícia Ribeiro Fernandes, que sempre de longe me apoia, se preocupa e faz questão de estar presente.

Aos meus sogros Sebastião Souza e Adriana Souza, a minha cunhada Maria Eduarda pelo carinho e apoio.

Muito obrigado a todos!

LISTAS DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 Número de animais inseminados e prenhes;
- Gráfico 2 Média de produção de oócitos por aspiração;
- Gráfico 3 Proporção do resultado do exame andrológico.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Escores de condição corporal em bovinos de corte, de acordo com Machado et al., (20008);
Quadro 2	Escore de condição corporal em gado de corte, adaptado, segundo Spitzer (1986);
Quadro 3	Classificação de oócitos de acordo com a presença ou quantidade de CCOs.
Quadro 4	Classificação de embriões de acordo com a morfologia, viabilidade e variações do estágio de desenvolvimento.
Quadro 5	Número de animais avaliados, inseminados e prenhes.

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

A2A2	Beta caseína A2
APL	Arranjo Produtivo Local
BE	Benzoato de estradiol
BIOTEC	Centro de Biotecnologia em Reprodução Animal
CE	Ciclo estral
CI	Cipionato de estradiol
CL	Corpo lúteo
CIV	Cultivo <i>in vitro</i>
CCOs	Complexo <i>cumulus ofurus</i>
D0	Dia zero
D8	Dia oito
D10	Dia dez
D18	Dia dezoito
E2	Estrógeno
ECC	Escore de condição corporal
ECG	Gonadotrofina coriônica equina
FD	Folículo dominante
FIV	Fecundação <i>in vitro</i>
FSH	Hormônio folículo estimulante
GnRH	Hormônio gonadotrófico
IA	Inseminação artificial
IATF	Inseminação artificial em tempo fixo
Mg	Miligramas
ml	Mililitros
µl	Microlitros
OPU	<i>Ovum Pick Up</i>
P4	Progesterona
PGF2 α	Prostaglandina
PIV	Produção <i>in vitro</i>
TE	Transferência de embriões
UI	Unidade internacional
Um	Unidade

RESUMO

Muito tem se discutido acerca da importância do Brasil no cenário mundial como grande produtor de alimentos, fazendo valer a importância dos bons resultados colhidos com as biotécnicas avançadas da reprodução de bovinos no APL lácteo do oeste goiano, onde observou-se o aumento do nosso rebanho em número, a especificidade para carne ou para leite e a capacidade de gerar renda e agregar valor aos animais produzidos por elas. Portanto, esta revisão, tem como objetivo abordar de forma detalhada esta importante tecnologia, mostrando o quanto elas afetam diretamente a eficiência reprodutiva. Estima-se que possuímos 234 milhões de cabeças, nos tornando o país que mais exporta proteína de origem animal com expressivo número de 2,2 milhões de toneladas, segundo o censo 2021, sendo responsável por 14,4% das exportações do mundo. A inseminação Artificial foi uma das primeiras biotécnicas a serem popularizadas no Brasil, conseguindo otimizar o uso do macho de alto valor genético através do processamento (congelamento e comercialização) de sêmen, difundindo genética de alto valor para o todo país e o mundo, dessa forma, contribuiu significativamente para o avanço genético do rebanho brasileiro, sendo a inseminação artificial a biotecnica mais utilizada visando a geração de resultados a médio e longo prazo, onde por exemplo, neste trabalho tivemos cerca de 1.143 inseminações realizadas, colhendo um resultado de 80% de prenhes confirmadas. Além disso, com o advento da transferência de embrião, o intervalo entre gerações com alto valor genético pode ser reduzido, onde foi possível produzir durante o tempo desta pesquisa, cerca de 63 embriões. Com essas biotécnicas é possível otimizar o uso da fêmea como multiplicadora de rebanho. No início, a TE era realizada através da produção e colheita de embriões no animal *in vivo*, logo, desenvolveu-se a técnica de Aspiração Folicular ou OPU. A OPU possibilitou a otimização da fêmea doadora, aproveitando o recrutamento de oócitos, pois consiste em utilizar equipamentos para sua obtenção a partir da punção do ovário, e consequentemente a produção dos embriões ocorre *in vitro*. Dessa forma, aumentamos o número de embriões produzidos comparado com a técnica de obtenção *in vivo*. Portanto, esta revisão tem por objetivo abordar as biotecnologias avançadas da reprodução e mostrar o quanto elas afetam diretamente a eficiência reprodutiva.

Palavras chave: Embriões bovino. Fecundação. Folículo. Genética. Inseminação artificial.

ABSTRACT

Much has been discussed about Brazil's importance on the world stage as a major food producer, making the case for the good results achieved with advanced bovine reproductive biotechnologies in the western Goiás dairy cluster, where we have seen an increase in our herd numbers, specificity for meat or milk and the ability to generate income and add value to the animals they produce. The aim of this review is therefore to take a detailed look at this important technology, showing how much it directly affects reproductive efficiency. It is estimated that we have 234 million head of cattle, making us the country that exports the most protein of animal origin with a significant figure of 2.2 million tons, according to Sense 2021, accounting for 14.4% of the world's exports. Artificial insemination was one of the first biotechnologies to be popularized in Brazil, managing to optimize the use of high genetic value males through the processing (freezing and marketing) of semen, spreading high value genetics throughout the country and the world, thus contributing significantly to the genetic advancement of the Brazilian herd, with artificial insemination being the most used biotechnology aimed at generating results in the medium and long term, where for example, in this work we had around 1. 143 inseminations were carried out, yielding 80% confirmed pregnancies. In addition, with the advent of embryo transfer, the interval between generations with high genetic value can be reduced, where it was possible to produce around 63 embryos during the time of this research. With these biotechnologies, it is possible to optimize the use of the female as a herd multiplier. In the beginning, ET was carried out by producing and harvesting embryos from the animal in vivo, then the Follicular Aspiration or OPU technique was developed. OPU made it possible to optimize the donor female, taking advantage of the recruitment of oocytes, as it consists of using equipment to obtain them by puncturing the ovary, and consequently the production of embryos takes place in vitro. In this way, we increase the number of embryos produced compared to the in vivo technique. Therefore, this review aims to address advanced reproductive biotechnologies and show how they directly affect reproductive efficiency.

Key words: Artificial insemination. Bovine embryos. Fertilization. Follicle. Genetics.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	15
1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1 CICLO ESTRAL	16
2.1.1 Dinâmica Folicular Ovariana	17
2.1.2 Atividade do Corpo Lúteo	18
2.1.3 Controle do Ciclo Estral	19
2.2 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL	19
2.2.1 Inseminação Artificial em Tempo Fixo	20
2.2.2 Escore de Condição Corporal.....	22
2.3 ASPIRAÇÃO FOLICULAR (OPU)	25
2.3.4 Cultivo <i>in vitro</i> de Embriões	28
2.3.5 Classificação dos Embriões.....	29
2.4 EXAME ANDROLÓGICO	30
REFERÊNCIAS	32
CAPÍTULO 2 – ARTIGO CIENTÍFICO.....	39
RESUMO.....	39
ABSTRACT	40
INTRODUÇÃO	40
MATERIAL E MÉTODOS	42
LOCAL DE EXECUÇÃO DOS TRABALHOS	42
CRITÉRIOS PARA ADESAO AO PROJETO	42
ANIMAIS E MANEJO	43
CONTROLE DO CICLO ESTRAL PARA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL.....	43
ASPIRAÇÃO FOLICULAR, RASTREIO E SELEÇÃO DE OÓCITOS	44
TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES.....	46
EXAME ANDROLÓGICO E CRIOPRESERVAÇÃO DE SÊMEN.....	47
RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO.....	48
ASPIRAÇÃO DE OÓCITOS E TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES (TE).....	51
COLETA E CRIOPRESERVAÇÃO DE SÊMEN BOVINO.....	52
CONCLUSÃO.....	53
REFERÊNCIAS	53

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1 INTRODUÇÃO

Segundo Ministério de Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA (2022), o rebanho bovino nacional ultrapassa a marca dos 234 milhões de cabeça de gado, batendo o recorde do último censo de 2021, que mostrava um rebanho de 224,6 milhões. Isso revela claramente a relevância comercial e ainda mais, a importância que o Brasil tem em relação a segurança alimentar no território nacional e no mundo,

Além disso, os estudos realizados pela EMBRAPA (2021) mostraram que o Brasil exporta cerca 2,2 milhões de toneladas, sendo responsável por 14,4% das exportações do mundo, fazendo valer a importância do rebanho nacional ao cenário nutricional mundial. Sendo assim, é válido salientar, que estes resultados só são alcançados devido as tecnologias avançadas disponibilizadas pelos estudos e inovações das ciências agrárias, que a cada dia presa mais pelo desenvolvimento e melhoria dos índices zootécnicos resumindo no que tange a significativa evolução dos aspectos nutricionais e reprodutivos.

Vale salientar que os aspectos reprodutivos, não só na bovinocultura, mas em todas as outras culturas, sem sombra de dúvidas apresentam-se com uma das principais características, visto que para prosseguimento produtivo do rebanho, os animais precisam se reproduzir e gerar o produto de continuidade, que neste caso em específico é o bezerro, visto que a busca por sua precocidade produtiva, apresenta-se entre as mais almejadas da ciência e do mercado, visando animais cada vez mais precoces, e consequentemente mais lucrativos (MAPA, 2022).

Desta forma, um dos principais destaques de reprodução da atualidade são as biotécnicas da reprodução, destacando desde a coleta de sêmen à aspiração folicular, transferência de embrião à (e principalmente, em relação ao volume e eficiência) Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF). A Embrapa (2021), destaca que IATF é a biotecnologia aplicada à reprodução animal que mais aumentou em 10 anos, passando de 8%, em 2012, para 29,4% em 2023, segundo dados da ASBIA (2024). Isso, ladeado dos resultados de aumento de rebanho, correlacionam-se por si, mostrando assim o sucesso da atividade e da implantação do protocolo dentro das propriedades.

No entanto, segundo a mesma pesquisa, esta tecnologia ainda enfrenta muitas dificuldades que impedem a ampliação mais rápida desde a biotecnologia, dentre elas, podem ser citadas a falta de estrutura das propriedades e o escore de condição corporal (ECC) nos

animais das propriedades de modo geral, visto que para a implantação IATF, exige-se níveis mínimos de condição geral do rebanho, estrutura zootécnica das propriedade e principalmente o acompanhamento de bons técnicos (EMBRAPA, 2021), visto que animais fora daquilo que se considera o essencial (ECC - 3), não apresentaram os resultados desejados, uma vez que animais caquéticos ou obesos não conseguirão colaborar com um sistema fisiológico e endócrino de forma correta.

Tendo em vista que a inseminação artificial nasce para melhorar e incrementar a renda de produtores de leite e de corte (FIRMINO e CHAGAS, 2021) robustecendo o processo produtivo, é claro que ela possui vários benefícios, o que não a isenta de algumas possíveis dificuldades. Além da IA, a aspiração folicular visando a formação de embriões, também se tornou algo muito visado no mercado da pecuária, visto os bons resultados que podem ser obtidos com o melhoramento genético possibilitado de uma forma mais próxima (em menos tempo), onde apresenta-se como princípio básico para a OPU a seleção de doadoras de oócitos e preparação prévia das mesmas. Ademais, a fertilidade do touro exerce um papel fundamental dentro destas biotecnologias, ainda mais do ponto de vista quantitativo que resulta do seu impacto direto no mercado de corte e leite quando se leva em conta o número de descendentes que um animal, apenas, pode deixar em uma única estação, fazendo assim que seja essencial uma avaliação geral do touro, bem como do seu material genético, sendo este o utilizado na IA e na formação do embrião. Assim, se objetiva com este estudo, uma demonstração clara dos frutos colhidos com o uso biotecnologias de reprodução do APL lácteo do oeste goiano.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CICLO ESTRAL

Segundo Santos, (2010), a fisiologia do ciclo estral (CE) é complexa dependente da interação sistema nervoso central, sistema endócrino e os órgãos genitais. A duração média do CE das fêmeas bovinas é de 21 dias, oscilando de 17 a 25 dias, que compreende o intervalo entre dois estros (MOREIRA et al., 2002; ALBUQUERQUE et al., 2004; JAINUDEEN & HAFEZ, 2004). Quando as fêmeas bovinas mantidas em condições ambientais adequadas apresentam cio periodicamente, o cio pode ser escalonado em proestro (3 dias), estro (18 horas), metaestro (2-3 dias) e diestro (14 dias) (GONÇALVES, 2001).

O hipotálamo estrutura do sistema nervoso central, localizada na base do cérebro possui a função de secreção de hormônios reguladores de gonadotrofina (GnRH), os quais são

armazenados na hipófise, que de forma pulsátil, os hormônios de origem glicoproteica são liberados o folículo estimulante (FSH) e o hormônio luteinizante (LH) (MORAES et al., 2002; JAINUDEEN & HAFEZ, 2004).

O GnRH é secretado pelo hipotálamo através do sistema porta hipotálamo-hipofisário, quando realiza o papel de sinalização para que na hipófise libere os demais hormônios, onde, esta é dividida em neurohipófise, parte motora da hipófise sensível a estímulos hormonais e adenohipófise, parte glandular, de armazenagem dos hormônios gonadotróficos. A neurohipófise, por sua vez, estimula a liberação dos hormônios LH e FSH presentes na região da adenohipófise e vão de encontro a receptores específicos via corrente sanguínea até as gônadas (MORAES et al., 2002).

2.1.1 Dinâmica Folicular Ovariana

O ovário é um órgão em pares do sistema reprodutor feminino, são responsáveis pela reprodução (MARIANI, 2009). Possui a capacidade de produzir célula reprodutiva feminina, o oócito, através de seus folículos, unidade morfofuncional do ovário. Os folículos é uma estrutura organizada para crescimento, maturação do oócito e produção de hormônios (ALVES et al., 2008).

Os ovários possuem duas regiões distintas, a cortical e a região medular, o córtex apresenta fisiologicamente o local que ocorre o sistema de recrutamento, seleção folicular e regressão dos folículos (SANTOS, 2010), já a parte medular é interna e representa a parte vascular responsável pela troca de nutrientes e hormônios de acordo com o CE. A dinâmica folicular se baseia no recrutamento envolvendo o desenvolvimento sincrônico de um grupo de folículos, denominado onda folicular, normalmente podem ocorrer de uma a três ondas foliculares por CE (LUCY et al., 1992).

Cada onda de crescimento folicular se divide em fases como recrutamento, seleção, dominância e atresia ou ovulação (GINTHER et al., 2001; REIS, 2004).

Dá-se início ao recrutamento de cada onda pela presença de pulsos de FSH circulante, a síntese de receptores para FSH nas células da granulosa e síntese de receptores para LH nas células da teca, evento necessário para os folículos entrarem na fase dependente de hormônio. A necessidade de FSH nos folículos demonstra que quanto mais receptores o folículo apresentar mais ele exerce a dominância (MORAIS et al., 2002), devido a ação a hormônio inibina, produzido pelo oócito do folículo antral, que fará com que os demais folículos sofram atresia.

A primeira onda após a ovulação ocorre cerca de 1,5 dias, elevando os níveis séricos de FSH, porém, para que ocorra esse evento nesse período, observa-se aumentos dos níveis séricos de FSH até 2 dias antes da emergência de cada onda folicular (RENESTO, 2004).

O controle das concentrações tônicas de LH e FSH se dá pela alimentação de hormônios esteroides (GONÇALVES, 2001). Então, observamos que quando o folículo dominante (FD) apresentar tamanho igual ou superior a 5 mm, produzirá estrógeno, promovendo uma resposta ao sistema endócrino, hipotálamo, o que fará com que o LH seja liberado, diminuindo o FSH fazendo com que ocorra no fim do ciclo a ovulação (NASSER, 2006). O LH está presente na onda pré-ovulatória que em média de 24 horas antes da ovulação se iniciar, promoverá a liberação do oócito (GONÇALVES, 2001).

Fêmeas zebuínas (*Bos taurus indicus*) diferem de fêmeas de taurinas (*Bos taurus taurus*) no que se refere ao diâmetro do FD e da área do CL que são menores em fêmeas zebuínas (BORGES et al., 2001), onde as matrizes da raça Nelore apresentam tamanho médio de $9,4 \pm 0,3$ a $12,1 \pm 0,3$ mm sendo inferiores aos de animais da subespécie *Bos taurus taurus* que apresentam um tamanho médio de 13 a 18mm, segundo Figueiredo et al., (1997). Segundo Baruselli et al., (2003), há estudos que mostram maior incidência de três ondas em fêmeas zebuínas, relatando a incidência de até quatro ondas de crescimento folicular por CE.

2.1.2 Atividade do Corpo Lúteo

O CL não é permanente, quando em condições fisiológicas normais é transitório, origina-se da diferenciação das células foliculares, logo em seguida da ovulação. Tendo por função secretar P4, exerce papel importante para a formação do embrião e implantação dele, garantindo ambiente propício para sinalização fetal. A ineficiência na produção de P4 causa problemas de infertilidade e perda embrionária, pois, a P4 estimula a atividade endometrial e a sobrevivência do embrião (BINELLI et al., 2001; MORAES et al., 2002; ALBUQUERQUE et al., 2004; JAINUDEEN e HAFEZ, 2004).

Na fase de luteinização das células foliculares a fêmea tem por característica não aceitar mais a monta, a cervix apresenta fechada, o muco produzido é viscoso e não flui mais pelo canal da cervix (ALBUQUERQUE et al., 2004).

O animal entra na fase do diestro, após a ovulação e produção de P4, que compreende no maior período do ciclo da vaca. O CL então, continua seu desenvolvimento até atingir seu maior crescimento e produção de P4. Essa característica, impede que haja pico de LH, porém, durante essa fase de secreção de P4, aumenta os níveis séricos de FSH estimulando a

emergência de uma nova onda folicular (BÓ et al., 1995). Com o impedimento do pico de LH, na emergência da onda folicular o ciclo não se completa, fazendo que o FD entre em atresia.

No caso de gestação, o conceito estará presente nos dias 14 e 17 e ocorre a secreção de interferon, hormônio sinalizador para implantação do embrião, e não haverá liberação de prostaglandinas ($\text{PGF2}\alpha$) e continuará a liberação de P4 (ALBUQUERQUE et al., 2004; JAINUDEEN & HAFEZ, 2004). No contrário, não havendo produção de interferon, a $\text{PGF2}\alpha$ será liberada promovendo a luteólise e, em seguida, o declínio da secreção de P4 e consequentemente, finaliza um CE e outro já se inicia (OKUDA et al., 2002).

2.1.3 Controle do Ciclo Estral

Com o advento da inseminação artificial (IA) fazia-se necessário a observação de cio diário, prática bastante observada em granjas leiteiras. Com os conhecimentos do CE das fêmeas bovinas é possível usar do conhecimento utilizando hormônios exógenos para encurtar ou prolongar o estro ou cio (MORAES et al., 2002). Utilizar desse conhecimento é importante para fazer uso de biotecnologias avançadas da reprodução como a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) e transferência embriões (TE), embriões produzidos *in vitro* (PIV) e acelerar o progresso genético do rebanho na melhoria da produção de carne e leite.

Para uso na IATF sincronizamos os animais a serem inseminados no momento pré-estabelecido sabendo-se o momento correto para inseminar e para a TE, transferimos os embriões no oitavo dia após a maturação *in vitro*, escolhendo as doadoras de acordo com a qualidade de ovulação, pois, este quesito é necessário para que os animais que receber os embriões tenham boa capacidade de gestar (BÓ et al., 2004; BURATINI et al., 2005).

Segundo Valle, (1991), diz que, basicamente, podemos utilizar de duas maneiras para controlar o CE. A primeira com utilização de $\text{PGF2}\alpha$ promovendo a regressão do CL, o segundo meio é utilizar um dispositivo intravaginal de liberação lenta de P4, dessa forma conseguimos suprimir o cio e a ovulação. Após a aplicação de $\text{PGF2}\alpha$ ou de P4 os animais irão retornar ao cio a partir do segundo dia. Este método, além de sincronizar o cio de vacas e novilhas com ciclos estrais regulares, tem se mostrado eficiente também na indução e sincronização de fêmeas em anestro.

2.2 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL

Com o objetivo de aumentar a produtividade de um rebanho, surgiu a IA como alternativa de melhoria da genética de um rebanho de acordo com sua especificidade. No entanto, assim como outras técnicas de reprodução, para bons resultados é indispensável seguir alguns métodos para evitar a redução do desempenho dos animais como a detecção do estro, pois, muitas vezes é de difícil observação devido a curta duração, condições precárias para execução da técnica e falta de conhecimento da técnica (FOOTE, 2002; BARUSELLI, 2019).

A IA veio para melhorar e incrementar a renda de produtores de leite e de corte (FIRMINO e CHAGAS, 2021), possuindo várias vantagens, quando bem-sucedida, como maior acurácia e intensidade de seleção, controle de doenças sexualmente transmissíveis, utilização de animais com dificuldades em monta, mas, que possuem alto valor genético, possibilidade da utilização de sêmen sexado, aumentando o número de fêmeas nascidas em rebanho de leite (BARUSELLI, 2019). Em contraponto, a IA apresenta algumas desvantagens como mão-de-obra treinada, alto investimento para pequenas propriedades, ferramentas e estruturas adequadas, e problema na identificação do cio (RODRIGUES et al., 2020).

Em relação a IA convencional, pode-se dizer que apenas os animais bem nutridos irão manifestar o cio, podendo ser utilizados para sua execução a coleta do ejaculado do touro, que posteriormente será envasado a fresco para a inseminação ou a aquisição de sêmen congelado de centrais de processamento e comercialização de sêmen (LEMES et al., 2022), preferindo a segunda opção, levando em consideração o progresso genético adquirido por meio deste, uma vez que o touro da propriedade não será capaz de fazê-lo. Então, o inseminador irá depositar o sêmen de maneira mecânica, via transcervical, depositando o sêmen no corpo do útero do trato reprodutivo da fêmea (FOOTE, 2002; BARUSELLI, 2019).

2.2.1 Inseminação Artificial em Tempo Fixo

Segundo ASBIA (2024) o Brasil que havia, ano pós ano, se superando quanto ao número de IA, vem sofrendo nos últimos dois anos queda na utilização desta técnica, no ano de 2023 o número de coletas de sêmen aptidão corte diminuiu de 21.855.986 em 2022, para 17.099.485 no ano passado e o mesmo ocorreu com sêmen aptidão leite caindo de 2.901.264 e 2.331.518, respectivamente, para os anos de 2022 e 2023. O que explica a queda na coleta de sêmen pode ser, que há grandes quantidades em estoque, respondido pela venda de doses ao consumidor final que vem sofrendo queda desde o ano de 2021, sendo vendidas 19.891.859, 18.036.210 e 17.062.431 doses, respectivamente para os anos de 2021, 22 e 23, o que pode ser explicado pelas dificuldades econômicas enfrentadas pelo agronegócio no último ano, fazendo valer a

observação dos ciclos da pecuária quando se dispõe da baixa no preço de bezerro e do arroba, trazendo um esfriamento, também, no mercado reprodutivo, visto que, adjunto a isto, o preço dos protocolos encontravam-se um tanto inchados devido aos valores dos hormônios protocolares.

Levando em consideração os índices reprodutivos nacionais, e a necessidade de um sistema reprodutivo eficiente para aquele que é um dos maiores rebanhos comerciais do mundo, a IATF apresenta-se como uma das principais soluções, quando se fala em volume e eficiência. A IATF destaca-se como uma das principais biotécnicas da reprodução colaborando instintivamente na melhoria de índices reprodutivos e produtivos na pecuária (ASBIA, 2010).

Com o domínio do CE de fêmeas bovinas podemos expandir a técnica da IATF, promovendo conforto para realizar IA, uma vez que dispensa a identificação de cio, permite escolher a melhor época do ano para início da estação de monta, consequentemente, estabelece o período de nascimentos, otimiza a mão-de-obra disponível e aumenta a produtividade do rebanho com incremento genético empregado (VALLE, 199; FIRMINO e CHAGAS, 2021).

Para a IATF a fêmea bovina é quem recebe o sêmen, concebe, gesta e dá luz ao produto final, portanto, zelar pela saúde e integridade desses animais garante sucesso do emprego da técnica (CARVALHO et al., 2018). Os animais em geral, aptos e inaptos, devem passar por manejo rigoroso nutricional, sanitário e histórico reprodutivo (SILVA et al., 2021).

Para estabelecer a IATF, diversos protocolos podem ser utilizados para a manifestação do cio. O protocolo, nada mais é que, um conjunto de hormônios exógenos aplicados na fêmea bovina que, independente da fase do ciclo estral que se encontra, conseguimos zerar a onda folicular e dar início a uma nova onda de crescimento folicular em todos os animais do lote (RODRIGUES et al., 2020).

Dentre os hormônios mais utilizados para sincronização do cio estão os hormônios do GnRH e PGF2 α , os que utilizam somente PGF2 α , os que utilizam somente P4 (VALLE, 1991) e os que utilizam a associação de P4, E2 e PGF2 α (GOTTSCHALLET et al., 2019; RODRIGUES et al., 2020).

O protocolo com base na PGF2 α , é denominado Presynch, aplica-se duas doses deste hormônio em um intervalo de tempo de 14 dias. A tempo, o uso da administração da PGF2 α era a forma de promover a luteólise, e logo, a identificação de cio para a IA nas novilhas, porém, essa prática só funciona em fêmeas cíclicas. Quando utilizado em protocolos pré-determinado deve-se respeitar o dia da administração deste, pois, está diretamente ligado as taxas de ovulação, bem como, da fertilidade de rebanhos de corte e de rebanhos de leite (MONGELLI et al., 2021).

Um protocolo hormonal de fácil manuseio, sendo dividido basicamente em três manejos, sendo o primeiro no chamado dia zero (D0) que compreende a utilização de um dispositivo intravaginal de liberação lenta de P4 associado a aplicação de benzoato de estradiol (BE), nesse caso, a ação é suprimir os eventos do cio e ovulação (VALLE, 1991) zerando a onda folicular com aumento dos níveis séricos de P4 estimulando picos de FSH para novo ciclo sem ovulação. No segundo manejo, segue-se com o dia chamado de dia oito (D8) que consiste em aplicar a PGF2 α quando o dispositivo for removido objetivando-se a luteólise, posteriormente, no D8 é o mais comum pra realizar a retirada de P4 e aplicação de demais hormônios 24 horas após administra-se cipionato de estradiol (CI), logo, em 48 horas ocorre a inseminação (D'Avila et al., 2019; SANTOS et al., 2018), destacando-se como o último manejo.

2.2.2 Escore de Condição Corporal

Segundo Valle (1991), o sucesso de um programa de indução e sincronização de cio depende do estado nutricional e sanitário dos animais. Animais malnutridos e com problemas de saúde não respondem satisfatoriamente ao tratamento. Outros fatores que devem também ser considerados são a disponibilidade de instalações adequadas, a utilização de sêmen de qualidade comprovada, os cuidados no manuseio de sêmen e a experiência do inseminador.

Para Machado et al., (2008), o ECC é uma das mais barata e importante feramente para o manejo reprodutivo, a avaliação do estado em que os animais apresentam é baseado na cobertura muscular e da massa de gordura, sendo assim, a avaliação pode ser feita visual ou através da palpação. Sua classificação é de forma subjetiva de técnico para técnico, é um método fácil e prático e barato, o ECC de gado e corte contados a partir de 1 a 5, ou de 1 a 9 como mostrado nos quadros que se seguem, o que torna mais interessante e de fácil ajuste de animal para animal.

Quadro 1. Escores de condição corporal em bovinos de corte, de acordo com Machado et al., (20008).

Escore	Avaliação
1 Caquético ou emaciado	Os processos transversos e os processos espinhosos estão proeminentes e visíveis. Há total visibilidade das costelas, a cauda está totalmente inclusa dentro do coxal e os íleos e os ísquios mostram-se expostos. Há atrofia muscular pronunciada e é como se houvesse a visão direta do esqueleto do animal (aparência de “pele e osso”).
2 Magro	Os ossos estão bastante salientes, com certa proeminência dos processos dorsais e dos íleos e dos ísquios. As costelas têm pouca cobertura, os processos transversos permanecem visíveis e a cauda está menos inclusa nos coxais (aparência mais alta). A pele está firmemente aderida no corpo (pele esticada).
3 Médio ou ideal	Há suave cobertura muscular com grupos de músculos à vista. Os processos dorsais estão pouco visíveis; as costelas, quase cobertas; e os processos transversos, pouco aparentes. Ainda não há camadas de gordura; a superfície do corpo está macia e a pele está flexível (pode ser levantada com facilidade).
4 Gordo	Há boa cobertura muscular, com alguma deposição de gordura na inserção da cauda. As costelas e os processos transversos estão completamente cobertos. As regiões individuais do corpo ainda são bem definidas, embora as partes angulares do esqueleto pareçam menos identificáveis.
5 Obeso	Todos os ângulos do corpo estão cobertos, incluindo as partes salientes do esqueleto, onde aparecem camadas de gordura (base da cauda e maçã do peito). As partes individuais do corpo ficam mais difíceis de ser distinguidas e o animal tem aparência arredondada. Este estado só é aceitável para animais terminados, prontos para o abate.

Quadro 1: O quadro nos mostra a classificação do ECC de 1-5 pontos, demonstrando suas características em cada ponto.

A variação da pontuação, destinada ao animal, depende da quantidade de reservas de musculatura e gordura depositadas sobre as estruturas esqueléticas como processo espinhoso, processo transverso, vértebras lombares, etc. (NICHOLSON et al., 1986). Animais com pontuações extremas muito baixa ou muito alta não são desejáveis para reprodução (SILVA et al. 2022).

Quadro 2. Escore de condição corporal em gado de corte adaptado, segundo Spitzer (1986).

ECC = 1. Debilitada.	A vaca está extremamente magra, sem nenhuma gordura detectável sobre os processos vertebrais espinhosos e os processos transversos, e sobre os ossos da bacia e as costelas. A inserção da cauda e as costelas estão bastante proeminentes.
ECC = 2. Pobre	A vaca ainda está muito magra, mas a inserção da cauda e as costelas estão menos projetadas. Os processos espinhosos continuam proeminentes, mas nota-se alguma cobertura de tecido sobre a coluna vertebral.
ECC = 3. Magra.	As costelas ainda estão individualmente perceptíveis, mas não tão agudas ao toque. Existe gordura palpável sobre a espinha, sobre a inserção da cauda e alguma cobertura sobre os ossos da bacia.
ECC = 4. Limite.	A individualização das costelas é menos óbvia. Os processos espinhosos podem ser identificados com o toque, mas percebe-se que estão mais arredondados. Existe um pouco de gordura sobre as costelas, sobre os processos transversos e sobre os ossos da bacia.
ECC = 5. Moderada.	O animal possui boa aparência geral. A gordura sobre as costelas parece esponjosa à palpação e as áreas nos dois lados da inserção da cauda apresentam gordura palpável.
ECC = 6. Moderada boa.	É preciso aplicar pressão firme sobre a espinha para sentir os processos espinhosos. Há bastante gordura palpável sobre as costelas e ao redor da inserção da cauda.
ECC = 7. Boa.	A vaca tem aparência gorda e claramente carrega grande quantidade de gordura. Sobre as costelas sente-se uma cobertura esponjosa evidente e também ao redor da inserção da cauda. Começam a aparecer “cintos” e “bolas” de gordura. Notase alguma gordura ao redor da vulva e na virilha.
ECC = 8. Gorda.	A vaca está muito gorda. É quase impossível palpar os processos

	espinhosos. O animal possui grandes depósitos de gordura sobre as costelas, na inserção de cauda e abaixo da vulva. Os “cintos” e as “bolas” de gordura são evidentes.
ECC = 9. Extremamente gorda.	A vaca está nitidamente obesa, com a aparência de um bloco. Os “cintos” e as “bolas” de gordura estão projetadas. A estrutura óssea não está muito aparente e é difícil de senti-la. A mobilidade do animal está comprometida pelo excesso de gordura.

Sendo assim, de muita coisa depende o sucesso de um bom protocolo, sendo eles: O ECC deve ser recomendado dentro do manejo do período de reprodução (TESS e KOLSTAD, 2000).

2.3 ASPIRAÇÃO FOLICULAR (OPU)

Pieterse et al. (1988) foi um dos primeiros a descrever a técnica de aspiração folicular transvaginal guiada por ultrassonografia ou OPU (*Ovum Pick Up*), segundo ele, esta é a técnica de eleição para obtenção de oócitos de doadoras vivas, em bovinos, destinados à PIV, as fêmeas podem ser submetidas ao procedimento em qualquer fase do ciclo estral ou depois da estimulação ovariana.

Os materiais utilizados para OPU, independente da espécie, o que basicamente consiste em um aparelho de ultrassom, transdutor de ultrassom transvaginal microconvexa, guia de aspiração folicular, bomba de vácuo com aquecedora a seco, tubos com solução de lavagem (tampão fosfato salino -PBS, soro fetal bovino, heparina e antibiótico) a 37°C, mangueira de vácuo, linha, rolha e agulha de aspiração (ORTIS & FOSS, 2013).

Alguns fatores podem influenciar o acesso a técnica de OPU, como, fatores mecânicos do aparelho de ultrassonografia (GALLI et al., 2001), domínio da técnica de aspiração (SCOTT et al., 1994), calibre da pressão da bomba de vácuo (HASHIMOTO et al., 1999), agulha utilizada e frequência de aspirações (MERTON et al., 2003), além destes, adentra-se nos fatores chamados biológicos se destacam as raças (DE ARMAS et al., 1994), idade da doadora (MERTON et al., 2003), estado reprodutivo e fase do ciclo estral, estado nutricional, estresse térmico, além da variabilidade das respostas no cultivo e desenvolvimento *in vitro* no processo de produção laboratorial (LONERGAN e FAIR, 2008). A influência desses fatores está diretamente ligada ao desenvolvimento embrionário *in vitro* e, conseqüentemente, afeta a

quantidade e qualidade de embriões produzidos em ambiente laboratorial podendo levar a perdas econômicas.

O princípio básico para a OPU é a seleção de doadoras de oócitos e preparação prévia das mesmas, organização do material e equipamentos no dia da aspiração, anestesia e antissepsia, procedimento de aspiração, cuidados pós aspiração, e rastreamento e seleção dos oócitos coletados (STROEBECH et al., 2015).

Após a aspiração dos oócitos, os mesmos serão maturados, fecundados e cultivados até a fase de embriões desenvolvidos. É importante ressaltar que essa técnica visa a aspiração de folículos em desenvolvimento, pois são os melhores para a produção, aconselhando-se que, aqueles em fase pré-ovulatória não sejam aspirados (PIETERSE et al., 1988).

2.3.1 Rastreio e Morfologia dos Oócitos

Para realizar a OPU deve-se dispor de equipe bem treinada, um técnico para a aspiração e outro para o rastreio e seleção de oócitos. Durante o procedimento, assim que terminar a aspiração de uma doadora o tubo contendo o conteúdo aspirado deve ser levado ao técnico rastreador, então, é realizado a coleta e classificação dos oócitos de acordo com o grau da integridade do citoplasma e núcleo, e também da quantidade de células *cumulos ofurus* (CCOs) (CURCIO, 2006; PALMA, 2008; IETS, 2013).

Os oócitos com maior viabilidade são aqueles que possuem integridade de citoplasma, com granulações finas, coloração amarronzada, e estão cobertos por várias camadas de células do CCOs. Importante realizar uma classificação rigorosa, pois varia a subjetividade de cada técnico, e a classificação nos diz muito sobre o número estimado de oócitos viáveis e consequentemente, o número de embriões produzidos (GOUVEIA, 2011).

Ao término da OPU, os oócitos já selecionados serão armazenados em tubos criogênicos com meio de maturação, alojados em uma transportadora de oócitos e embriões, previamente aquecida a 36°C, e permanecerá assim até a chegada no laboratório (RENESTO et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2014).

Os oócitos, são estruturas que possuem competência para maturação, fecundação e de crescimento embrionário devido à presença do CCOs. A presença de grande quantidade de CCOs diz respeito ao grau de seleção durante o rastreio. Para Gonçalves et al., (2008) essa classificação possui escala de um a quatro, como se vê no quadro 3:

Quadro 3: Classificação de oócitos de acordo com a presença ou quantidade de CCOs.

Qualidade 1	Apresenta-se com CCOs envoltas em mais de três camadas, com citoplasma homogêneo, com granulações finais, preenchendo completamente o interior da zona pelúcida (ZP) e de coloração marrom;
Qualidade 2	As CCOs encontram-se parcialmente compactadas, em menos de três camadas celulares. O citoplasma é com granulações distribuídas de maneira heterogênea, podendo estar mais concentradas em determinados locais, também preenche completamente a ZP;
Qualidade 3	As CCOs demonstram-se presentes, porém expandidas. O citoplasma fica contraído, degenerado, vacuolizado ou fragmentado, preenchendo irregularmente a ZP;
Qualidade 4	Ausência de CCOs apresentando-se desnudo.

A quantidade de CCOs influencia no aumento do número de espermatozoides ao redor do oócito, beneficiando a fecundação, estabelece microambiente para a capacitação e penetração e evita o endurecimento da zona pelúcida do oócito (PALMA, 2008). Para Sutton-Mcdowall & Thompson (2015), o responsável pela nutrição e suporte do oócito são as CCOs, portanto, torna-se uma estrutura inestimável para o sucesso da PIV.

2.3.2 Maturação dos Oócitos

Os oócitos encontram-se nos folículos ovarianos e podem ser obtidos por técnicas de punção como OPU, pela punção ovariana no animal *in vivo*. A fêmea bovina possui a capacidade de ter ondas foliculares mesmo estando gestantes, e a população de folículos em mamíferos é muito ampla e foi estimada em 130.000 para fêmeas bovinas europeias e 75.500 para fêmeas bovinas zebuínas (DODE & RUMPF, 2002).

Durante a onda folicular, no animal *in vivo*, ocorre a dominância e apenas um oócito é escolhido para ovulação pela presença do LH, com a retirada do oócito do contato com as células foliculares proporciona o reinício do processo de maturação nuclear. Sabendo disso, os oócitos aspirados ainda precisam sofrer o processo de maturação *in vitro*, atingimos a maturação dos oócitos fazendo o cultivo de oócitos em estufa com ambiente controlado, atmosfera a 5% de CO₂, temperatura de 38,5°C, umidade de 95% por um período de 22 a 24 horas (PALMA, 2001; DODE & RUMPF, 2002).

No decorrer da maturação observa-se a expansão das células do *cumulos* que está presente em torno do oócito. Com a expansão das células do *cumulos*, estas, atravessam a zona pelúcida formando a junção com o oócito para troca de substância e estímulo do plasma. Quando as células do *cumulos* estão compactas, no oócito imaturo, ocorre liberação de ácido hialurônico para expansão das células (WARSSAMAN e ALBERTINI, 1994).

2.3.3 Fecundação *in vitro*

Objetivando resultados positivos na fecundação *in vitro* (FIV) é necessário boa maturação do oócito e boa preparação do espermatozoide (MENDES et al., 2003).

Após a maturação dos oócitos, então o sêmen deve ser preparado em percol para adquirir a capacidade de fecundar, interação touro-vaca e a distinção entre touros é um diferencial para o sucesso da FIV. Ter a consciência em testar touros e levantar dados de conversão e interação é necessário para elevar índices de produção de embriões (WATANABE et al., 1999).

Os eventos que ocorrem no processo de fecundação são descritos por Palma (2001), segundo ele, inicia com a passagem do espermatozoide pela camada celular e acelular envolta do oócito, penetrando no citoplasma, formando pró-núcleos feminino, masculino e singamia pela presença da enzima hialuronidase, encontrada na membrana plasmática do gameta masculino, assim, o espermatozoide atravessa a camada de células do cúmulo embebidas em ácido hialurônico. Ao alcançar a zona pelúcida ocorre fusão das membranas cromossômicas e exocitose do conteúdo do acrossomo. Quando o espermatozoide adentra o oócito pela membrana plasmática inicia-se intensas reações locais para ativação do oócito e bloqueio aos demais espermatozoides.

O oócito é conhecido como gameta feminino e o espermatozoide o gameta masculino, a fecundação é a junção dos gametas, para formação de um novo indivíduo (PALMA, 2001), podendo durar de 18 a 22 horas em ambiente controlado com temperatura a 38.5°C, atmosfera com 5% de gás CO₂ e umidade a 95% (CORRÊA, 2006).

2.3.4 Cultivo *in vitro* de Embriões

Para o CIV, era utilizado o co-cultivo, adição de células somáticas ao meio, era indispensável para conseguir taxas satisfatórias na evolução embrionária. Mas, com o avançar de testes, o meio SOF (fluido sintético do oviduto) é considerado um meio prático e simples, comparado com o meio de cultura de tecido, considerado mais complexo para o cultivo celular

em geral (GONÇALVES et al., 2002). O meio SOF foi desenvolvido, para produção de embriões, a partir de fluido do oviduto de bovinos, excluindo a utilização do co-cultivo no meio (WATSON et al., 2000).

Após a FIV os zigotos são lavados e transferidas para meios de cultivo *in vitro* (CIV) até o período de desenvolvimento completo, blastocisto (BL). Durante esse período dura sete dias período em que ocorre a ativação do genoma embrionário, divisão celular, compactação dos blastômeros e início da distinção do blastocele (BUENO e BELTRAN, 2008; LIMA e SOUZA, 2009), assim, podendo ser transferidos para o útero de receptoras previamente preparadas (DODE & RUMPF, 2002).

Durante o seu desenvolvimento os embriões são diferentes comparados com o zigoto, fase inicial, e com o blastocisto, fase final para inovulação. Segundo Lima e Souza (2009), essas estruturas são diferentes devido a morfologia e características fisiológicas e bioquímicas. As alterações morfológicas, ocorrem no embrião inicialmente, é a compactação dos blastômeros, mórula compacta, e o desenvolvimento do blastocele, blastocisto inicial.

2.3.5 Classificação dos Embriões

No processo de classificação leva-se em consideração o aspecto morfológico do embrião de viabilidade e as variações que ocorrem no mesmo durante seu desenvolvimento inicial até o desenvolvimento completo. Para HAFEZ et al. (2004), a classificação é realizada como se vê no quadro 4.

Quadro 4: Classificação de embriões de acordo com a morfologia, viabilidade e variações do estágio de desenvolvimento.

Mo – Mórula	Blastômeros individuais não- distintos, espaço perivitelino ocupado pelo embrião;
Mc – Mórula Compacta	Blastômeros individuais tornam-se mais próximos, formando uma massa embrionária compacta que ocupa dois terços do espaço perivitelino;
Bi – Blastocisto Inicial	Embrião com a cavidade preenchida com fluido ou blastocele, ocupando três quartos de espaço perivitelinico, trofoblasto e MCI podem ser diferenciadas;

Bl – Blastocisto	Pronunciada diferenciação do trofoblasto externo, MCI compacta e mais escura, blastocisto muito proeminente e embrião ocupando quase todo o espaço perivitelinico;
Bx – Blastocisto expandido	O embrião cresce notadamente em tamanho, a zona pelúcida torna-se mais fina;
Bn – Blastocisto em Eclosão	O embrião no processo de eclosão, zona pelúcida desprendida;
Be – Blastocisto Eclodido	O embrião reexpandido com blastocisto grande, circular, muito frágil e em estágios mais avançados, alongados;

2.4 EXAME ANDROLÓGICO

A fertilidade do touro impacta diretamente o mercado de corte e leite e é um dos critérios de seleção mais importantes na cadeia produtiva de bovinos, visto o volume de progênes que estes conseguem alcançar. O mérito reprodutivo dos touros, dentro de um sistema de produção, é cinco vezes mais importante para o produtor de bezerros do que o desempenho no crescimento de bezerros e dez vezes mais importante do que a qualidade do produto final (BARBOSA et al., 2005).

Segundo Barbosa et al., (2005), quando avaliamos o touro individualmente vimos que este possui mais importância que a fêmea, uma vez que, durante o período de reprodução, que compreende da concepção até nascimento, o macho consegue deixar mais descendentes no rebanho que a fêmea, seja através da monta natural ou IA.

A avaliação da função reprodutiva dos machos é realizada através do exame andrológico que inclui etapas importantes para detecção de defeitos que levam a infertilidade, e ou, a incapacidade de gerar filhos. As alterações que afetam o desejo ou habilidade de executar a cópula é conhecida por *impotência coeundi*, já defeitos na habilidade dos espermatozoides na fecundação do oócito é conhecida como *impotência generandi* (VAN CAMP, 1997).

Para Robalo Silva e Lopes da Costa (2010) ao realizar o exame andrológico o técnico deve ser rigoroso de forma a evitar a comercialização de animais com problemas reprodutivos.

No quesito problemática no exame andrológico, Vale Filho et al., (1979), apresentaram as causas, a origem e as formas de manifestação da subfertilidade e da infertilidade do macho bovino. As principais alterações na fertilidade dos touros foram a degeneração testicular, maturidade sexual atrasada, hipoplasia testicular, espermatogênese imperfeita e imaturidade

sexual. Ainda, foi observado que as causas de infertilidade dos touros são em decorrência de fatores ambientais e do manejo indesejável, bem como a escolha da genética.

O exame andrológico é indicado para a avaliação do reprodutor antes da estação de monta, nas relações de comercialização de reprodutores, na ocorrência de falhas reprodutivas do rebanho, para a determinação da ocorrência da puberdade, para o diagnóstico de problemas de fertilidade e para o ingresso nas centrais de coleta e criopreservação de sêmen (BARBOSA et al., 2005).

O exame andrológico consiste em exame físico e o espermiograma. A avaliação física inclui o exame do aparelho reprodutivo, incluindo palpação do escroto e observação da mobilidade das túnicas e testículo, medição da circunferência escrotal, avaliação do orifício prepucial e porções livre do pênis, e palpação trasretal das glândulas acessórias, vesícula, uma porção da próstata e ampolas do ducto deferente. Quanto ao espermiograma, inicia-se a colheita de sêmen com avaliação macroscópica do volume, consistência e cor (PALMER, 2021), já durante a análise microscópica, observa-se, de forma subjetiva, a motilidade individual, morfologia e a determinação da concentração (BARBOSA et al., 2005; PENNY, 2018).

A realização do exame andrológico clássico, utiliza-se microscópio ótico com objetivas de 10x, 20x, 40x e imersão de 100x, lâminas e lamínulas, colocadas sobre uma mesa aquecedora a 35-37°C, banho maria também nessa mesma temperatura, tubos coletores de 15 e 50 ml, para coleta e diluição, micropipetas para manipulação em micro porções, câmara de Neubauer, contador manual e uma solução de fixação, formol salina por exemplo, afim de definir a concentração e fichas de registro de dados para elaboração de laudo final (BARBOSA, et. al., 2005).

Após o ejaculado são realizadas avaliações do turbilhão, motilidade e vigor do ejaculado. Utilizando um pipetado de 10 µl, coletamos uma amostra para avaliar o turbilhão, quesito classificado de 1 a 5, sendo, 1 muito pouco movimento de massa e 5 muito movimento de massa, logo, a motilidade, de forma subjetiva, coloca-se a mesma quantidade entre lâmina e lamínula para observação em grupos de movimentos e grupos de espermatozoides parados, bem como, o tipo de movimentos que apresenta, esse quesito avalia-se em porcentagem de 0 a 100%, considerando zero todos mortos, sem movimentos, e por fim desta etapa de avaliações imediatas, o vigor estimado de 1 a 5 pontos, avaliando o espermatozoide sozinho e tipo de movimento apresentado (ARRUDA et al., 2015).

Após as avaliações imediatas separamos uma alíquota de 10 µl do ejaculado para determinação da concentração diluindo em formol salina na proporção 1x100, em seguida, preparamos outra alíquota para morfologia e utilizamos o mesmo pipetador até turvar em 1000

μ l de formol salina. A morfologia pode ser realizada através de microscópio de contraste de fase ou sem, no caso sem contraste de fase é necessário corar com panótio e então é realizado a leitura em lâmina na objetiva de imersão em 100x contando um total de 200 células, classificando os defeitos em maiores e menores (ARRUDA et al., 2015; PENNY, 2018).

Para o cálculo da concentração adicionamos a solução pré diluída nos dois lados da câmara e iniciamos a contagem ao centro, contando 5 quadrados. Faça uso da câmara de Neubauer para determinar a concentração espermática do ejaculado, cada lado da câmara possui 25 quadrados, dos quais no mínimo, 5 deverão ter os espermatozoides contados, fazer a contagem em L ou L invertido dos espermatozoides que se encontram sobre a linha, contar os 5 quadrados na diagonal, e fazer a média dos dois lados da câmara. A avaliação da morfologia e concentração poderá ser realizada no local onde o touro se encontra, necessário no processo de congelamento do sêmen, ou pode-se levar até o laboratório, um local mais confortável com equipamentos disponíveis para tal (PENNY, 2018).

Ao longo do tempo, foi desenvolvido sistema de computador com software para avaliação espermática no intuito de eliminar a subjetividade inerente a observação microscópica do técnico. A exemplo disso, são os sistemas CASA (computer-assisted sperm analysis) que, através de software, registra a imagem captada através de microscópio e analisa de uma vez só a motilidade, a concentração, a morfologia e um conjunto de outros parâmetros cinéticos de uma pequena amostra de sêmen (AMANN e WABERSKI, 2014).

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, F. T.; FILHO, J. B. B.; VIANA, J. H. M. **Manipulação do ciclo estral em bovinos de corte: bases anatômicas fisiológicas e histológicas da reprodução da fêmea.** Lavras (MG): UFL – Departamento de Medicina Veterinária, 2004

ALVES, B.G; NEVES, S. M. N; ARRUDA, R. P; NAVES, J. H. F. F; ALVES, K. A. A classificação do corpo lúteo por assimetria ovariana e sua relação com os índices de prenhes em receptoras de embriões bovinos. In: XXXV Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária – CONBRAVET. **Anais...**, Gramados- RS, 2008.

IATF é a tecnologia utilizada em mais de 91% das inseminações no Brasil,

segundo USP – ASBIA. Disponível em: <<https://asbia.org.br/iatf-e-a-tecnologia-utilizada-em-mais-de-91-das-inseminacoes-no-brasil-segundo-usp/#:~:text=Entre%202002%20e%202023%2C%20a>>. Acesso em: 23 abr. 2024.

AMANN, R.P.; WABERSKI, D.. Computer-assisted sperm analysis (CASA): Capabilities and

potential developments. **Theriogenology**. 81(1):5-17.e 3. 2014.

ASBIA. Associação Brasileira De Inseminação Artificial. Manual de Inseminação de Artificial. Uberaba – MG. 2010.

ASBIA - Associação Brasileira de Inseminação Artificial. Index ASBIA, 2023. Uberaba – MG. 2024.

ARRUDA, R. P. de; CELEGUINI, E. C. C.; GARCIA, A. R. G.; SANTOS, G. de C.; LEITE, G.; OLIVEIRA, L. Z.; LANÇONI, R.; RODRIGUES, M. de P.. Morfologia espermática de touros: interpretação e impacto na fertilidade. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, Belo Horizonte, v.39, n.1, p.47-60, jan./mar. 2015

BARBOSA, R. T.; MACHADO, R.; BERGAMASHI, M. A. C. M.. **A importância do exame andrológico em bovinos**. São Carlos, SP: Embrapa–, 2005. 128p. (EMBRAPA-PECUÁRIA SUDESTE. Documentos 41).

BARUSELLI, P. S.; MARQUES, M. O.; REIS, E. L.; NASSER, L. F. T.; SILVA, R.C. P.; MENEGATTI, J. A.; VALENTIN, R.; SANTOS, I. C. C. Adequação da dose de FSH (Follitropin-v) em protocolos de superovulação de vacas nelore (*Bos taurus indicus*) com inseminação artificial em tempo fixo (SOTF). *Acta Scientiae Veterinarie*, v. 31, p. 244-245, 2003.

BARUSELLI, P. S.; CATUSSI, B. L. C.; ABREU, L. A.; ELLIFF, F. M.; SILVA, L. G.; BATISTA, E. S.; CREPALDI, G. A. Evolução e perspectivas da Inseminação Artificial em bovinos. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v. 43, n. 2, 2019.

BORGES, A. M., TORRES, C. A. A., RUAS, J. R. M., ROCHA JÚNIOR, V. R., CARVALHO, G. R. Dinâmica folicular ovariana em novilhas 43 mestiças Holandês-Zebu. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, 2001, v.53, n.5, p.595-604. ISSN 01102-0935

BÓ, G. A.; ADAMS, G. P.; CACCIA, M.; MARTINEZ, M.; PIERSON, R. A.; MAPLETOFT, R. J. Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestogen and estradiol in cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 39, p. 193- 204, 1995.

BÓ G. A.; MORENO D.; CUATAIA L.; BARUSELLI P. S.; REIS, E. L.. Manipulação hormonal do ciclo estral de doadoras e receptoras de embriões bovinos. **Acta Scientiae Veterinarie**, 32 (suplemento): p.1-22, 2004.

BINELLI, M.; THATCHER, W. W.; MATTOS, R.; BARUSELLI, P. S. Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. **Theriogenology**, Philadelphia, 2001. v.56, p. 1451-1463.

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Valor Bruto da Produção Agropecuária**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília, DF, 2022. Disponível em: < <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/vbp-e-estimado-em-r-689-97bilhoes-para-2020/202003VBPelaspeyresagropecuariapdf.pdf> >. Acesso em: 15 jun. 2020.

BUENO, P.; A. BELTRAN, M. P. Produção in vitro de embriões bovinos. **Ver. Elet. Med. Vet.**, n.11, p.1-7, 2008.

BURATINI JR J.; CASTILHO A. C. S.; TEIXEIRA A. B.; COSTA L. B.; PINTO, M. G. L.; GIOMETTI I. C.; GLAPINSKI, V. F.; NOGUEIRA M. F.G.; BARROS C. M.; PRICE C. A. Avanços no entendimento da fisiologia do desenvolvimento folicular. **Acta Scientiae Veterinariae**. 33 (suplemento 1): 1.55-68, 2005.

CARVALHO, N. U. M.; DAU, A. M. P.; SANTOS, M. P.; CESARO, M. P.; ROSA, P. R. A. **Aspectos reprodutivos aplicados à inseminação artificial em bovinos**. Santa Maria, RS : Universidade Federal de Santa Maria, Colégio Politécnico da UFSM : Rede e-Tec Brasil, 2018.

CORRÊA, G. A. **Tensão de oxigênio durante o cultivo in vitro de embriões bovinos: efeito na produção e expressão de genes relacionados ao estresse oxidativo**. 2006. 76f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) – Universidade de Brasília, Brasília – DF.

CURCIO, B.R. et al. recuperação de oócitos eqüinos com cumulus oophorus compacto por curetagem da parede folicular. **Ciência Animal Brasileira**, v. 7, n. 4, p. 417-422, 2006.

D'AVILA, C. A.; MORAES, F. P.; JÚNIOR, T. L.; GASPERIN, B. G. Hormônios utilizados na indução da ovulação em bovinos – Artigo de revisão. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 43, n. 4, p.797-802, 2019.

DE ARMAS, R.; SOLANO, R.; PUPO, C. A.; AGUILAR, A.; AGUIRRE, A.; RIEGO, E.; CASTRO, F. O. Effect of the donor oocyte breed on in vitro fertilization results in cattle. **Theriogenology**, v. 41, p. 186, 1994.

DODE, M. A. N.; MATTOS, L.; RUMPF, R. In vitro production of embryos in SOF medium under high oxygen tension. **Theriogenology**, Stoneham, v. 57, n. 1, p. 661, 2002.

FIGUEIREDO, R.A., BARROS, C.M., PINHEIRO, O.L. et al. Ovarian follicular dynamics in Nelore breed (*Bos indicus*) cattle. **Theriogenology**, v.47, p.1489-1505, 1997

FIRMINO, A. A. F.; CHAGAS, J. C. C. Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) em bovinos de corte na Fazenda Alfredo de Maya no município de Cacimbinhas/AL. **Diversitas journal**, v. .6, n. 4, 2021.

FOOTE, R. H. The history of artificial insemination: Selected notes and notables. **Journal of Animal Science**, v.80, p. 1-10, 2002. E-Suppl_2.

GALLI, C.; CROTTI, G.; NOTARI, C.; TURINI, P.; DUCHI R.; LAZZARI, G.. Embryo production by ovum pick up from live donors. **Theriogenology**, 55: 1341-1357, 2001.

GINTHER, O. J.; BERGFELT, D.R.; BEG, M. A.; KOT, K. Follicle selection in cattle: role of luteinizing hormone. **Biology of reproduction**, v.64, p.197-205, 2001.

GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. 2ª ed. São Paulo – SP: Varela, p.408, 2008.

GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. São Paulo: Varela, p.195- 226. 2002.

GONSALVES, P, B.. Transferência e criopreservação de embriões bovinos. REICHENBACH, H. D. et al. **Biotécnicas Aplicadas a Reprodução Animal**. Ed. São Paulo: Varela, Cap. 8, p. 127-178, 2001.

GOTTSCHALL, C. S.; ABREU, M. S.; LORHAN, S. S. Influência da indução à puberdade e do peso vivo sobre a resposta reprodutiva em novilhas de corte. **Revista Veterinária em Foco**, v. 16, n. 2, 2019.

GOUVEIA, F. **A produção in vitro de embriões Bovinos**. Dissertação em Ciência Animal, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília (UnB), 2011.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**, 7.ed. Barueri-SP: Editora Manole, 513p, 2004.

HASHIMOTO, S.; TAKAKURA, R.; KISHI, M.; SUDO, T.; MINAMI, N.; YAMADA, M. Ultrasound-guided follicle aspiration: the collection of bovine cumulus-oocyte complexes from ovaries of slaughtered or live cows. **Theriogenology**, v. 51, p. 757-765, 1999.

IETS. **International Embryo Technology Society Statistics of Embryo Collection and Transfer in Domestic Farm Animals**, 2013.

JAINUDEEN, M. R & HAFEZ, E. S. E. Ciclos reprodutivos: Bovinos e Bubalinos. In: HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**. 7.ed. São Paulo: Manole, Cap.11, p.159-171, 2004.

LEMES, B. C.; SOUZA, G. D.; PEREIRA, J. A. S.; DANDE, J. E.; FILHO, M. F. F.; MONTICELI, V. M. R.; GUEDES, E. Metodologia e manejo reprodutivo aplicado em bovinos leiteiros. **Agroveterinária**, v. 4, n. 1, 2022.

LIMA, I. M. T.; SOUZA, A. L. Desenvolvimento e sobrevivência de embriões no período de pré-implantação: enfoque em ruminantes. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, V.33, p.194-202, 2009.

LONERGAN, P.; FAIR, T. In vitro-produced bovine embryos—Dealing with the warts. **Theriogenology**, v. 69, p. 17-22, 2008.

LUCY, M.C.; SAVIO, J. D.; BADINGA, L. et al.. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. **Journal Animal Science**, v 70, p 3615-3626, 1992.

MACHADO, R.; CORRÊA, R. F.; BARBOSA, R. T.; BERGAMASHI, M. A. C. M.. Escore da condição corporal e sua aplicação no manejo reprodutivo de ruminantes. São Carlos, SP: Embrapa–, 2008. (EMBRAPA-PECUÁRIA SUDESTE. Documentos 57).

MENDES Jr., J. O. B.; BURNS, P. D.; De La TORRES SANCHES, J. F.; SEIDEL Jr., G. E. Effect of heparin on cleavage rates and embryo production with four bovine sperm preparation protocols. **Theriogenology, Stoneham**, v. 60, n. 2, p. 331-340, 2003.

MARIANI, A.C.B. **Influência do dia estro em relação à FIV e a morfologia do corpo lúteo no dia da ovulação com os índices de prenhes em receptoras de embriões bovinos**

produzidos in vitro. 2009. 56f. Mestrado (Ciência Animal Tropical) - Universidade Federal do Tocantins, Araguaína, 2009.

MERTON, J. S.; DE ROOS, A. P. W.; MULLAART, E.; DE RUIGH, L.; KAAL, L.; VOS, P. L. A. M.; DIELEMAN, S. J. Factors affecting oocyte quality and quantity in commercial application of embryo technologies in the cattle breeding industry. **Theriogenology**, v. 59, p. 651-674, 2003.

MONGELLI, M. S.; TAVARES, I. C.; FERRANTE, M. Evolução e premissas dos protocolos hormonais de inseminação artificial em tempo fixo na pecuária. **Ciência Animal**, v. 31, n. 1, p.119-133, 2021.

MORAES, J. C. F.; SOUZA, C. J. H.; GONSALVES, P. B. D. Controle do estro e da ovulação em bovinos e ovinos. In: GONSALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. São Paulo: Varela, 2002. cap.3, p.25-55

MOREIRA, F. R. L.; DE LA SOTA, T.; THATCHER, W. W. Effect of day of estrous cycle at the initiation of a timed artificial insemination protocol on reproductive responses in dairy heifers. **Journal of Animal Science**. Fargo, 2002. v.78, p.1568–1576.

NASSER, L. F.; BÓ, G. A.; MENEGATI, J. A.; MARQUES, M. O.; MEPLETOFT, R. J.; BARUSELLI, P. S. Superovulatory response during the first follicular wave in Nelore (*Bos indicus*) donors. **Theriogenology**, v. 59, Abstracts, p. 530, 2003.

NICHOLSON, M. J.; BUTTERWORTH, M. H. A. Guide to condition scoring of zebu cattle. Addis Ababa: **International Livestock Centre for Africa**, 1986. 29 p.

OKUDA, K.; MIYAMOTO, Y.; SKARZYNSKI, D. J. Regulation of endometrial prostaglandin F2 synthesis during luteolysis early pregnancy cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, Auburn, 2002. v.23, p.255- 264.

OLIVEIRA, A.P. et al. Dinâmica folicular ovariana comparativa entre as espécies bovina e equina1. **PUBVET**, Londrina, V. 4, N. 8, Ed. 113, Art. 763, 2010.

ORTIS H., FOSS R. Effect of potential oocyte transport protocols on blastocyst rates after intracytoplasmic sperm injection in the horse. **Equine Vet J Suppl.** Dec;(45):39-43, 2013.

PALMA, G. A. Producción in vitro de embriones bovinos. In: **Biotechnología de la reproducción**. 2ª ed. Mar del Plata - Argentina, p 313-380, 2008.

PALMER, C.W.. Evaluation of Breeding Soundness: The Spermogram. In: Hopper RM, editor. **Bovine Reproduction**. 2nd ed. New Jersey (USA): Wiley-Blackwell; p. 102-119. 2021.

PENNY, C.D.. Examination of Bulls for Breeding Soundness – **An Illustrated Guide**. Westport, Ireland: Teagasc; 2018.

PIETERSE, M. C.; KAPPEN, K. A.; Kruip, Th. A. M.; Taverne; M. A. M.. Aspiration of bovine oocytes during transvaginal ultrasound scanning of the ova-ries. **Theriogenology**, v. 30, p.751-762, 1988.

REIS, E. L.. Reprodução Animal: **Efeito da dose e do momento da administração de gonadotrofina coriônica equina no protocolo de sincronização da ovulação para T. E. T. F.** Dissertação de Mestrado – FMVZ departamento de Reprodução Animal, São Paulo, 101f. 2004.

RENESTO, A.. **Associação das biotécnicas: Aspiração folicular guiada por ultrassonografia e superovulação na produção *in vitro* e *in vivo* de embriões bovino.** Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita” – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Campus de Jaboticabal – SP. 59f 2004.

RODRIGUES, A.S.; BRANDÃO, T. O.; DALCHIAVON, G. G.; ALCANTARA, M. R.; SANTOS, J. F.; FILHO, A. L. R.; LARA, L. L. Eficácia do uso distintos estimulantes do crescimento folicular em um protocolo para IATF em fêmeas nelore. **Veterinary Science**, v. 25, n. 1, 2020.

SANTOS, K. J. G. dos.. **Efeito da progesterona na produção de embriões em novilhas Gir e Girolando.** Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária. 114 f., 2010.

SANTOS, R.; TORTORELLA, R. D.; BARBOSA, E. A.; TEIXEIRA, H. C. A.; PAIVA NETO, M. A.; RAMOS, A. F. Protocolo com nove dias de progesterona para inseminação artificial em tempo fixo em vacas taurinas adaptadas ao clima tropical. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.70, n.6, 2018.

SCOTT, C. A.; ROBERTSON, L.; DE MOURA, R. T. D.; PATERSON, C.; BOYD, J. S. Technical aspects of transvaginal ultrasound-guided follicular aspiration in cows. **Vet. Rec.**, v. 134, p. 440-443, 1994.

SILVA, J. C. B.; SILVA, M. R.; NOGUEIRA, E.; NICACIO, A. C.; ABREU, U. G. P. de.. Como implementar inseminação artificial em tempo fixo em sua fazenda: conheça os pontos-chave. – (EMBRAPA PANTANAL) Portal Embrapa. 2022.

SILVA, M. A. N.; MELLO, M. R. B.; PALHANO, H. B. Inseminação artificial e inseminação artificial em tempo fixo em bovinos. **Revista Científica UBM-Barra Mansa (RJ)**, v. 23, n. 45, 2021.

SPITZER, J. C. Influences of nutrition on reproduction in beef cattle. In: MORROW, D. A. (Ed.). **Current therapy in Theriogenology**. 2. ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1986. p. 231-234.

STROEBECH, L. et al. In vitro production of bovine embryos: revisiting oocyte development and application of systems biology. **Animal reproduction**, 12, 465-472, 2015.

SUTTON-MCDOWALL, M. L.; THOMPSON, J. G. Metabolismo do oócito e do embrião pré-implantação. **Anais...** IN: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões, Gramado-RS, v.29, p. 88-98. 2015.

TESS, M. W.; KOLSTAD, B. W. Simulation of cow-calf production system in a range environment: II. Model development. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 78, n. 5, p. 1159-1169, 2000.

VALLE, E.R.do. O ciclo estral de bovinos e métodos de controle. Campo Grande : EMBRAPA-CNPGC, 1991. 24p. (EMBRAPA-CNPGC. Documentos, 48)

VALE FILHO, V. R.; PINTO, P. A.; FONSECA, J. et al. Patologia do sêmen: Diagnóstico andrológico e classificação de *Bos taurus* e *Bos indicus* quanto à fertilidade para uso como reprodutores em condições de Brasil – de um estudo de 1088 touros. São Paulo: **Dow Química**, 1979. p. 4.

VAN CAMP, S.D. Common causes of Infertility in the bull. *The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v.13, p.203-232, 1997.

WATANABE, Y. F.; WATANABE, M. R.; DAYAN, A.; VILA, R. A. The effect of bull on OPU-IVP in zebu cattle. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, Porto Alegre, v. 27, n.1, p. 297, 1999.

WATSON, A. J.; DESOUSA, P.; CAVENEY, A.; BARCROFT, L. C.; NATALE, D.; URQUHART, J.; WESTHUSIN, M. E. Impact of bovine oocyte maturation media on oocyte transcriptional levels, blastocyst development, cell number, and apoptosis. **Biology of Reproduction**, Champaign, v. 62, n. 2, p. 355-364, 2000.

WASSARMAN, P. M.; ALBERTINI, D. F. The mammalian ovum. In: Knobil, E.; Neil, J. D. **The physiology of Reproduction**, New York: Raven, NY, p.9-122, 1994.

CAPÍTULO 2 – ARTIGO CIENTÍFICO

TECNOLOGIAS LIGADAS À REPRODUÇÃO ANIMAL NO APL LÁCTEO DO OESTE GOIANO REALIZADAS PELO CENTRO DE BIOTECNOLOGIA E REPRODUÇÃO ANIMAL (BIOTEC)

TECHNOLOGIES RELATED TO ANIMAL REPRODUCTION IN THE DAIRY INDUSTRY IN WESTERN GOIÁS CARRIED OUT BY THE CENTER FOR BIOTECHNOLOGY AND ANIMAL REPRODUCTION (BIOTEC)

CORDEIRO, F. A. C.

Universidade Estadual de Goiás – UEG

Mestrado Profissional em Produção Animal e Forragicultura

RESUMO

Levando em consideração a importância da atividade pecuária leiteira e corte, o uso das biotecnias avançadas da reprodução de bovinos propiciou o aumento de nascimento nas propriedades, aumento do ganho genético do rebanho, aumento da produção, seja de corte seja de leite, além de ter agregado valor ao animal produzido no APL lácteo do oeste goiano. O BIOTEC realiza trabalhos de transferência de material genético para o melhoramento dos animais dos 24 municípios do Arranjo Produtivo Local Lácteo do Oeste Goiano (APL Lácteo) perfazendo no último ano de 2023 um montante de 1.143 inseminações, em pequenas propriedades rurais, realizando uma média de duas inseminações por matriz, obtendo ao final do mesmo ano, obtendo 80% de taxa de prenhes. Além disso, cabe destacar que o centro de biotecnologias de reprodução animal (BIOTEC) executou durante o mesmo período outras tecnologias ligadas às áreas reprodutivas para a comunidade em questão, fazendo com que os pequenos produtores do APL, fossem atendidos e assistidos pelos avanços tecnológicos obtidos pelas ciências agrárias. Além disso vale ressaltar que durante a prestação de serviços do BIOTEC aos pequenos produtores, deparou-se com diversas e variáveis dificuldades, onde pode se contar da falta de acesso a uma assistência técnica qualificada (visto que muitas vezes os produtores não conseguem fazer uma administração precisa de seu manejo, seja ele produtivo ou reprodutivo), a falta de estruturas necessárias à realização dos procedimentos, a falta de condições corporais no rebanho (ECC), entre outros. Com isso, torna-se indispensável o uso de biotecnologias que acelerem a recria destes animais, para que atinjam a fase produtiva e reprodutiva o quanto antes. Sendo assim, o trabalho em questão, teve como objetivo analisar os serviços prestados pelo BIOTEC aos mais de 175 produtores situados nos 24 municípios do Lácteo, onde se buscou analisar o aumento da eficiência reprodutiva e, conseqüentemente, a produtividade dos produtores de leite do APL, justificando a importância qualitativa e quantitativa do uso das biotecnologias avançadas da reprodução.

Palavras chave: Biotécnicas reprodutivas. Eficiência técnica. Produção animal. ³⁹

* Trabalho elaborado de acordo com as normas do Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.

ABSTRACT

Taking into account the importance of dairy and beef livestock farming, the use of advanced biotechnics for cattle reproduction has led to an increase in births on properties, an increase in the genetic gain of the herd, an increase in production, whether beef or milk, in addition to have added value to the animal produced in the dairy APL in western Goiás. BIOTEC carries out work to transfer genetic material for the improvement of animals in the 24 municipalities of the Arranjo Produtivo Local Lático do Oeste Goiano (APL Lático) totaling in the last year of 2023 an amount of 1,143 inseminations, on small rural properties, carrying out an average of two inseminations per mother, obtaining an 80% pregnancy rate at the end of the same year. Furthermore, it is worth highlighting that the animal reproduction biotechnology center (BIOTEC) implemented other technologies linked to reproductive areas for the community in question during the same period, ensuring that small APL producers were served and assisted by the technological advances obtained. by agricultural sciences. Furthermore, it is worth highlighting that during BIOTEC's provision of services to small producers, it was faced with several and variable difficulties, which include a lack of access to qualified technical assistance (since producers are often unable to manage management needs, whether productive or reproductive), the lack of structures necessary to carry out the procedures, the lack of body conditions in the herd (ECC), among others. Therefore, it is essential to use biotechnologies that accelerate the breeding of these animals, so that they reach the productive and reproductive phase as soon as possible. Therefore, the work in question aimed to analyze the services provided by BIOTEC to more than 175 producers located in the 24 municipalities of Lático, where we sought to analyze the increase in reproductive efficiency and, consequently, the productivity of APL milk producers. , justifying the qualitative and quantitative importance of the use of advanced reproductive biotechnologies.

Keywords: Animal production. Reproductive biotechniques. Technical efficiency.

INTRODUÇÃO

Há muito, o Brasil se destaca como um dos principais produtores de proteína animal do mundo, ocupando as primeiras posições quanto a produção e exportação de carne bovina. Além do corte, o Brasil se apresenta como um grande produtor de leite, estando presente em praticamente todos os municípios brasileiros, gerando renda, alimento e trabalho, tornando assim, clara a importância que essa atividade exerce sobre a vida de toda a cadeia produtiva. Com isso, busca-se acima de tudo, a criação e a intensificação de tecnologias que deem melhores oportunidades de crescimento e eficiência na criação de animais de produção, buscando diminuir o tempo ocioso gasto nas fases da vida animal, proporcionando um maior aproveitamento da atividade por parte dos produtores.

Segundo dados do MAPA (BRASIL,2020) o Brasil possui mais de um milhão de pessoas que trabalham diretamente com produção leiteira, isso, sem contar a cadeia produtiva daqueles que trabalham de maneira indireta com a venda de rações, medicamentos, venda de

estruturas, entre outros. Segundo a mesma pesquisa, apenas no ano de 2019 o valor gerado pela pecuária leiteira, ultrapassou a casa dos 35 Bilhões de reais, justificando mais uma vez a importância econômica e produtiva desta atividade.

Dentre as biotecnias mais utilizadas pelo BIOTEC, é a IATF. Com essa técnica podemos otimizar o uso do macho para disseminar genética em todo APL Lácteos. Apresenta fácil aceitação pelos produtores, comparados a outras biotécnicas, por apresentar resultados mais imediatos e satisfatórios, considerando a quantidade de animais produzidos por ela.

Segundo Freitas (2022) dentre as muitas obtidas pela IATF, encontram-se a realização da IA com dia e hora marcados, a eliminação da detecção de cio, a inseminação das matrizes a partir de 60 dias após o parto, a indução da ciclicidade em vacas em anestro, a redução do intervalo entre partos, a possibilidade de altas taxas de prenhez no início da estação de monta, entre outras muitas outras, como o próprio controle reprodutivo do rebanho.

Além disso, com esta tecnologia, é possível evitar muitos problemas relacionados com a procriação, sabendo, por exemplo que planejamento e manejo reprodutivo é essencial para evitar problemas graves como a própria endogamia, sabendo que com as análises dos dados obtidos ao longo dos anos, pode se impedir o surgimento de problemas produtivos e reprodutivos, relacionado à consanguinidade.

Um das maiores procuras deste APL é a obtenção do Leite A2A2, atentando para o fato da bonificação concedida pelos laticínios aos produtores deste tipo de leite. Com isso, aspirando o maior aproveitamento das fêmeas com valores genéticos ímpares, como é o caso das doadoras A2A2, a aspiração de oócitos proporcionou a formação de embriões para as características desejadas e tornou-se também presente nas atividades realizadas ao longo do ano de 2023, fazendo que a difusão dessa genética fosse feita em um tempo mais curto e proveitoso ao produtor.

Segundo Taneja et al., (2000), a TE possibilita que uma fêmea possa produzir um número de progênes muito superior ao que seria possível obter fisiologicamente durante sua fase reprodutiva normal. Na aspiração de oócitos, busca-se a produção de embriões que serão implantados nas receptoras (barrigas de aluguel), onde a genética das receptoras não exerce tanta influência na progênie, fazendo com que, as exigências na qualidade das receptoras não sejam tanto quanto das doadoras.

Isso, colabora de maneira significativa com o desenvolvimento genético dos rebanhos, visto que a grande massa dos animais produtivos do APL, consiste em fêmeas de médio ou baixo valor genético.

Com a aspiração de oócitos, a PIV e a TE, podemos alcançar a especificidade animal em curto período de tempo, fazendo com que as progênes nasçam com características genômicas mais específicas para a atividade econômica, o que se feitos de maneira natural, levariam anos para os resultados quantitativos e qualitativos possibilitados por esta tecnologia (VAGARO et al., 2008).

MATERIAL E MÉTODOS

LOCAL DE EXECUÇÃO DOS TRABALHOS

Os trabalhos foram realizados pelo Centro de Biotecnologia em Reprodução Animal (BIOTEC), vinculado a instituição de ensino Universidade Estadual de Goiás Câmpus Oeste, Sede São Luís de Montes Belos-GO, situado na Fazenda Escola da UEG às margens da rodovia GO-060, km 124, em São Luís de Montes Belos sentido Iporá-GO.

Os dados foram levantados diante dos trabalhos de campo realizados nas 175 propriedades rurais, sendo estas espalhadas dos 24 municípios que compõem o Arranjo Produtivo Local lácteo do Oeste Goiano (APL Lácteos) sendo assim, o presente trabalho avaliou os municípios de Aurilândia, Buriti, Cidade de Goiás, Faina, Firminópolis, Israelândia, Itaberaí, Mossâmedes, Paraúna, Sanclerlândia e São Luís de Montes Belos.

As informações coletadas a campo, foram contabilizadas em planilhas no Excel, onde buscou-se ter levantamento de dados, dos serviços prestados ao longo do ano, em que se contabilizou as avaliações dos animais, os protocolos administrados, as inseminações feitas, os diagnósticos de gestação, andrológico, dentre outras atividades, como a transferência de embriões, aspiração folicular, avaliação espermática.

Visando o desenvolvimento das questões reprodutivas, principalmente na monta natural, consta a avaliação espermática dos touros nas propriedades assistidas pelo BIOTEC, onde foram realizados o exame de avaliação espermática com intuito em avaliar o volume, os aspectos qualitativos e quantitativos do ejaculado, o turbilhonamento, o vigor, a concentração e a motilidade do sêmen dos touros utilizados na monta natural pelos produtores.

CRITÉRIOS PARA ADESÃO AO PROJETO

Os produtores para aderir ao projeto deveriam atender os critérios de adesão. O foco do projeto são pequenos produtores do APL Lácteo do Oeste Goiano, que de certa forma, não

recebem assistência ou consultoria técnica. Os critérios são: conter até 50 animais no total e a propriedade não ser maior que 15 alqueires.

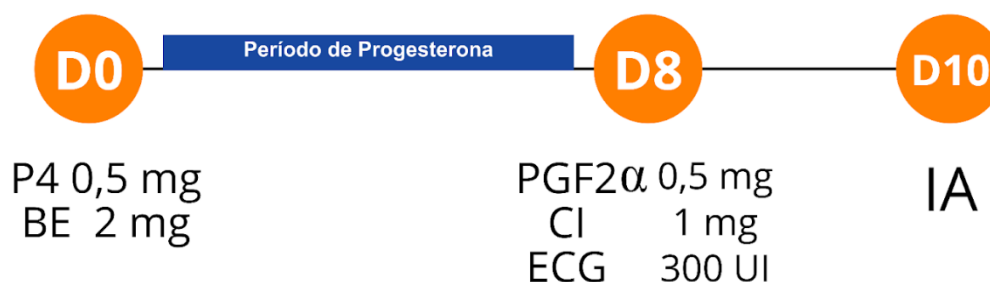
ANIMAIS E MANEJO

Para realização do projeto foram avaliadas um total de 3.200 animais, onde preconizou-se animais que apresentassem boa condição de escore corporal, observando uma média de ECC 2,5 – 3 levando em consideração as possíveis variações, onde trabalhou-se com matrizes com idade superior aos 24 meses. Como a região é vasta, há uma variabilidade de finalidade da produção corte, leite ou as duas juntas. Ainda é possível observar algumas produções de leite com animais voltados para o corte. A região carece de incentivo, devido há dificuldade de atendimento por falta de estrutura de contenção dos animais, mas, antes disso, a falta de conhecimento, assistência técnica e ou consultoria o que sito nutrição é mais afetado na região explorada.

CONTROLE DO CICLO ESTRAL PARA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL

Para o controle do ciclo estral, dos animais aptos a inseminação, foi utilizado hormônios exógenos nas dosagens, preconizados pelo protocolo Co-Synch. No D0, 1 unidade de dispositivo intravaginal contendo 0,5 mg/animal de Progesterona e administração de BE, intramuscular, na concentração 2 mg/animal. No D8, foi realizada a retirada de implante de P4 e administração intramuscular de prostaglandina na concentração 0,25 mg/animal, cipionato de estradiol na contração de 1 mg/ animal e gonadotrofina coriônica equina na concentração de 300 UI por animal, 48 horas depois realiza-se a IA (Figura 1).

Figura 1: Protocolo de indução para inseminação artificial em tempo fixo.



Realizando a inseminação artificial os animais foram devidamente contidos em brete de segurança ou tronco coletivo, tomando os cuidados necessários com a integridade física do técnico e do animal a ser inseminado. Fizemos uso de luva de palpação e procedimento para limpeza do conteúdo retal das fêmeas e posteriormente preparamos a dose de sêmen montando o aplicador.

A dose de sêmen no botijão foi devidamente manuseada com pinça anatômica, retirando da raque e colocando no descongelador rapidamente. O aplicador foi montado com uma dose de sêmen vestido de bainha de inseminação, previamente, a dose de sêmen congelada foi aquecida em descongelador automático, programado para aquecer a água em 37°C por 30 segundos.

No ato de inseminar, deve-se abrir um lábio vulvar e introduzir a ponta do aplicador no interior da vagina no sentido de baixo para cima, fugindo do meato urinário e adentrando a cavidade vaginal. Em seguida, introduz o braço no reto do animal e vá de encontro a cérvix, encontre o óstio externo da cérvix e passe o aplicador até o corpo do útero, local de deposição do sêmen. Sêmen aplicado, retire o aplicador e o braço do reto do animal e faça o descarte dos materiais descartáveis em local apropriado.

Os animais trabalhados no período foram avaliados e os que apresentaram vazios protocolados e inseminados, 30 a 35 dias depois foi realizado um diagnóstico de gestação para confirmar as prenhez e os animais que apresentaram vazios foram protocolados novamente e realizado o diagnóstico de gestação com 30 a 35 dias depois da inseminação.

ASPIRAÇÃO FOLICULAR, RASTREIO E SELEÇÃO DE OÓCITOS

As aspirações guiadas por ultrassom (OPU) foram realizadas, independente da fase do ciclo estral que as doadoras se apresentavam, realizado por médico veterinário treinado para execução da técnica.

Como doadoras de embrião, foram utilizadas 20 vacas da raça Gir Leiteiro (GL) e 10 matrizes Girolando $\frac{1}{2}$ sangue HO (GL), com pedigree, acasaladas com touros Holandeses (HO), da mais alta avaliação genética, produzindo embriões Girolando $\frac{1}{2}$ sangue HO e Girolando $\frac{3}{4}$ HO respectivamente. Tendo como média de idade das doadoras 24 meses a cima, com escore de condição corporal de 3 – 3,5.

As doadoras foram contidas em brete, dispondo total segurança para a aspiração e para o animal, realizou-se o esvaziamento do conteúdo fecal do reto e a higiene da região perineal. Então, os animais foram anestesiados com 50 miligramas de cloridrato e lidocaína, via epidural.

Então foram realizadas as aspirações utilizando aparelho de ultrassom, equipado com transdutor microconvexo setorial de 7,5 MHz inserido na guia de aspiração, com agulha 18G, sistema longo de recuperação e bomba a vácuo.

O sistema de recuperação consiste num manguito de silicone inserido na bomba a vácuo, ligado ao tubo coletor de 50 ml pela rolha de vedação do vácuo, ainda, inserido a rolha introduz o fio transparente, longo de calibre 2 mm, inserido na agulha de aspiração por dentro do mandril. O tubo de 50 ml possui 5 ml de meio, contendo heparina e 1% de soro fetal bovino previamente aquecido a 37°C, para receber o fluxo contínuo do conteúdo aspirado.

A pressão da bomba de vácuo foi previamente calibrada para 62 mmGH ou 12 ml de meio/minuto. Após a higiene da doadora, a guia de aspiração foi introduzida na vagina e os ovários localizados e aspirados. O conteúdo do aspirado foi levado ao laboratório em tudo de 50 ml para rastreio e seleção dos oócitos de acordo com a camada de CCOs.

Os oócitos viáveis foram colocados em tubos criogênicos com meio MIV, um tubo para cada doadora com 25 a 30 oócitos por tubo, as doadoras que produziram mais que 30 oócitos, os oócitos foram distribuídos em dois ou mais, evitando competição por espaço e nutriente. Os micros tubos foram devidamente identificados com o nome da doadora e colocados em transportadora de oócitos até o laboratório de reprodução.

A seleção dos oócitos foram feitas com auxílio de um microscópio estereoscópico e uma micropipeta. Todos os oócitos com citoplasma homogêneo ou apresentando alguma irregularidade foram utilizados no processo de PIV, apenas os classificados com expandidos foram descartados.

Após o processo de seleção os oócitos foram encaminhados para a estufa de CO₂, a temperatura de 38,5°C em placs de petri contendo 6 gotas de meio MIV, previamente produzidas 2 horas antes para ativação do meio, e os mesmos foram distribuídos de 20 a 25 oócitos por gotas contendo 60µl de meio, em seguida a placa foi coberta de óleo vegetal para evitar perda de meio por evaporação. Colocados em incubadora de cultivo à temperatura de 38,5°C, com 5% de CO₂ e umidade saturada a 95%, foram mantidos por 22 horas para que se realizasse o processo de MIV. A classificação seguiu o critério de expansão do cumulus oophorus (COCs) e qualidade do citoplasma.

Em seguida, a FIV foi realizada a partir da utilização de sêmen de touros holandeses sexado de fêmea oriundo de reprodutores de centrais de coleta, pelo método gradiente de percol. Para tal, o sêmen foi processado e analisado antes de se juntar aos oócitos já maturados. Após 22 horas de FIV os zigotos são selecionados quanto a viabilidade e foram desnudados por

pipetagem retirando excesso de células do cúmulo e espermatozoides, e transferidos para placas de cultivo preparadas com gotas de meio SOF armazenados na mesma estufa de cultivo.

O dia da fecundação foi considerado o dia 0 (D0) da FIV. No D2, a placa foi avaliada para acompanhar o desenvolvimento embrionário, sendo considerada a quantidade de embriões presentes e a determinação da taxa de clivagem. A taxa de blastocistos foi avaliada 168 horas (D7) após o início da fecundação.

TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES

Para a transferência de embriões (TE), as receptoras foram preparadas com protocolo hormonal preconizado pelo BIOTEC, conforme a Figura 2, o mesmo para IA sincronizando o cio e, conseqüentemente, ovulações em um mesmo período das receptoras de embriões. No D0, 1 unidade de dispositivo intravaginal contendo 0,5 mg/animal de P4 e administração de BE, intramuscular, na concentração 2 mg/animal.

No D8, foi realizada a retirada de implante de P4 e administração intramuscular de PGF2 α na concentração 0,25 mg/animal, CI na contração de 1 mg/ animal e ECG na concentração de 300 UI/animal. As receptoras após a retirada, após o D8, aguardam o dia da TE, que será no décimo oitavo dia do protocolo.

Figura 2: Protocolo de indução de receptoras para transferência de embriões.

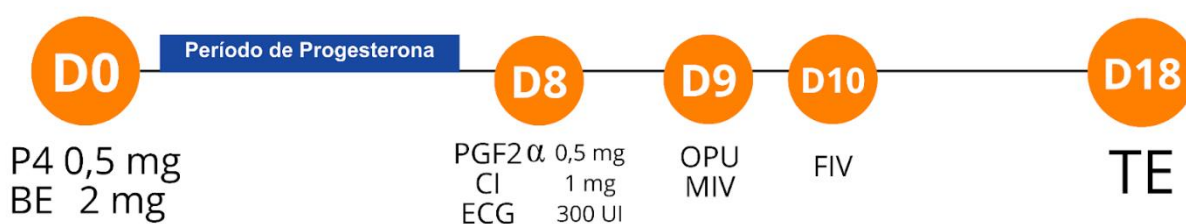


Figura 2: Na presente imagem, pode-se observar a linha cronológica do protocolo de transferência de embrião, enquanto que, D0, D8, D9, D10 e D18 representam a distância em dias da aplicação hormonal e procedimentos citados abaixo de cada um.

Para a FIV o dia da fecundação é o D10 os embriões serão transferidos no dia D18, quando apresentam seu estado de desenvolvimento completo. Para tal, os embriões são envasados em palhetas de 0,25 ml, um embrião por palhetas. Logo, são alojados no compartimento da transportadora de embriões, previamente aquecida a 38,5° e lavados para serem transferidos.

As receptoras, contidas em brete apropriado, foram submetidas a avaliação ovariana, através da técnica de ultrassonografia, identificando a presença de CL. Os animais que não apresentam CL são descartados do trabalho e poderão aguardar o próximo.

Os animais identificados como aptos a receber embriões apresentaram Cl grau 1, cornos uterinos flácidos e cérvix fechada. Antes da TE as receptoras foram anestesiadas com 50 miligramas de cloridrato de lidocaína, via epidural, em seguida, foi preparado o aplicador de embriões com bainha e camisinha sanitário.

Seguindo, introduz-se o aplicador montado na vagina do animal, identifica-se a cérvix do animal e o ósteo externo da cérvix, introduz o aplicador pelo óstio externo da cérvix e arrebente a camisinha sanitária, comece a vestir o aplicar com a cérvix da receptora até atingir o óstio interno da cérvix.

Após chegar ao corpo do útero, deve-se encaminhar o aplicador para o lado que foi identificado o CL e depositar o embrião na ponta do corno ipsis lateral a ovulação. Após a inovulação foi agendado o diagnóstico de gestação com 30 a 35 dias.

EXAME ANDROLÓGICO E CRIOPRESERVAÇÃO DE SÊMEN

Segundo o CBRA, (2013) o exame começa com o exame físico e termina com o exame do ejaculado. Contendo o animal em brete de segurança, avaliou-se a bolsa escrotal e seu conteúdo, realize a tosa do prepúcio e a lavem interna do mesmo. Depois, retire todo conteúdo fecal do reto e avalie as glândulas acessórias e as ampolas dos ductos deferentes observando se o animal reage a estímulos de dor ou desconforto.

Em seguida, introduzimos o eletroejaculador no reto do touro e começamos a emitir pulsos elétricos, estimulando a ereção do animal. Ao expor o pênis observamos se há alterações relevantes a ao pênis e glande. É necessário um colaborador para segurar a sonda do eletroejaculador e outro para pegar o ejaculado em quanto o técnico manuseia o equipamento. Para sequestro do ejaculado utilize um tubo de 15 ml, envolto por papel toalha, acoplado a um funil de plástico. Após a colheita do ejaculado utilizamos um pipetado de 10 µl, coletamos uma amostra para avaliar o turbilhão, quesito classificado de 1 a 5, sendo, 1 muito pouco movimento de massa e 5 muito movimento de massa. Usamos a mesma quantidade para avaliação da motilidade, de forma subjetiva, coloca-se a amostra entre lâmina e lamínula para observação em grupos de movimentos, bem como, o tipo de movimentos que apresenta, esse quesito é avaliado em porcentagem de 0 a 100%, considerando zero todos mortos, sem movimentos. Por

último o vigor foi estimado de 1 a 5 pontos, avaliando o espermatozoide individualmente e o tipo de movimento apresentado.

Preparamos uma alíquota para morfologia e utilizamos o mesmo pipetador de 10 µl até turvar 1000 µl de formol salina. A morfologia é realizada através de microscópio de contraste de fase a leitura é em lâmina úmida, na objetiva de imersão em 100x, contando um total de 200 células, classificando os defeitos em maiores e menores.

Também se separa uma alíquota de 10 µl do ejaculado para determinação da concentração diluído em formol salina na proporção 1x100. Na fase de determinação da concentração utilizamos a câmara de Neubauer adicionando a solução pré diluída nos dois lados da câmara e iniciamos a contagem ao centro, contando 5 quadrados, fizemos a contagem em L ou L invertido dos espermatozoides que se encontram sobre a linha, contar os 5 quadrados na diagonal, e fazer a média dos dois lados da câmara.

Com todos os parâmetros dentro do padrão, emite-se o laudo atestando o animal estar apto para reprodução.

Para a congelação do sêmen usamos um botijão de 34 litros de nitrogênio líquido para que todo o processo de congelação não seja prejudicado pela sua falta.

A criopreservação de sêmen foi realizada em equipamento portátil previamente programado. Durante a congelação, será utilizada a curva de -0,25 °C /minutos até atingir 5 °C podendo levar até 4 horas esta fase. Em seguida, até atingir a temperatura de -120°C, em uma curva de -20°C/minuto cerca de 20 minutos. Ao chegar a essa temperatura as palhetas serão submersas no nitrogênio líquido a -196°C.

Após essa etapa, as palhetas serão novamente avaliadas quanto a motilidade e vigor comparadas a análise do CASA, estando com pelo menos 35% de motilidade consideramos aprovadas e são, por fim, organizadas em racks e armazenadas em canecas do botijão de nitrogênio líquido.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO

Durante o ano de 2023, foram realizados 1.344 protocolos durante os meses de janeiro a novembro nos 24 municípios que compõem o APL Lácteo do Oeste Goiano, sendo avaliados no mesmo período, com 3.176 animais, conforme pode ser observado na tabela a seguir.

Tabela 3: Número de animais avaliados, inseminados e prenhes.

Município	Quantidade de Animais Avaliados	Quantidade de Animais inseminados	Quantidade de Animais Prenhe
Aurilândia	326	179	70
Buriti	102	42	27
Cidade de Goiás	669	314	195
Faina	543	235	152
Firminópolis	34	22	8
Israelândia	24	0	0
Itaberaí	140	49	87
Mossâmedes	92	39	44
Paraúna	23	18	6
Sancierlândia	57	19	30
São Luís de Montes Belos	1190	248	351
Total	3200	1165	970

De acordo com a tabela apresentado, observa-se que a estação de monta (EM) no APL Lácteos foi realizada por um longo período de tempo, fora daquilo que se entende dos meses de outubro a março, pois, se trata de um projeto de transferência de genética e melhoramento genético durante o ano todo, procurando atender produtores de pequeno e médio porte.

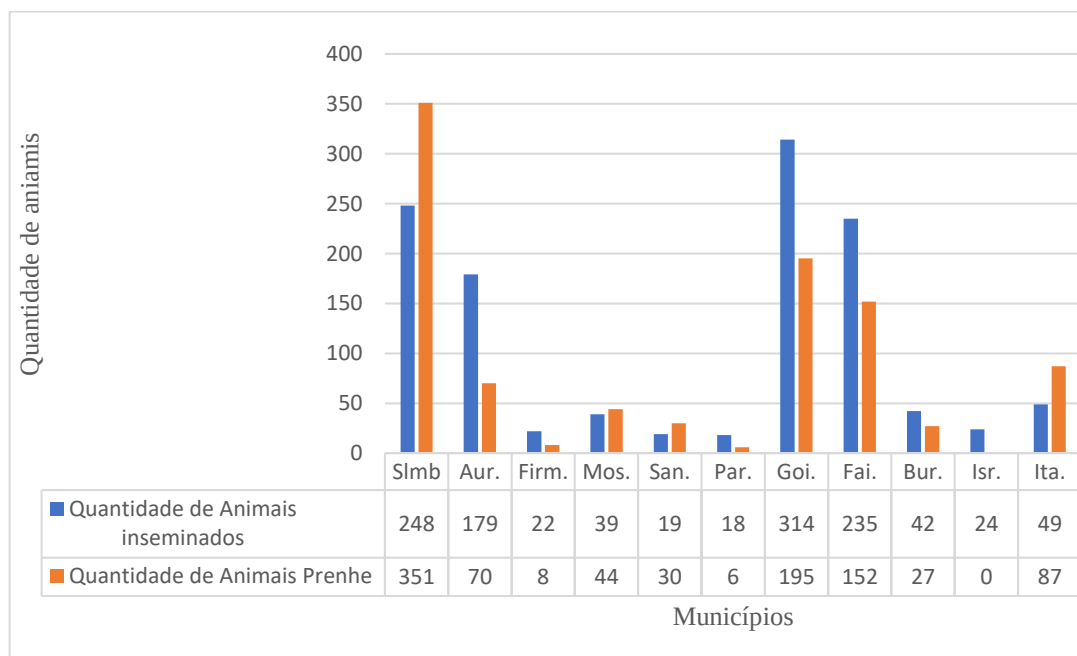
O número de fêmeas aptas é mais intenso de janeiro a maio, visto que neste período as fêmeas já se encontram com a nutrição mais equilibrada em decorrência do período de chuvas e a maior disponibilidade de forragens. Essa concentração de fêmeas aptas por período do ano é mais comum que se imagina, a duração da estação de monta pode durar 70, 90, 120 ou mais dias segundo Haddad e Mendes, (2010).

Observando a concentração de animais em início da estação de monta no APL Lácteos pode-se considerar tardio, pelo fato de que em condições tropicais as chuvas começam em setembro e outubro e tendem a se concentrar a partir de outubro e novembro, fato que coincide com a alta disponibilidade de forrageiras em quantidade e qualidade (Torres Junior et al., 2009), tal característica define o início da estação na região a partir de janeiro, sendo que é neste período em que as pastagens já responderam ao início das chuvas, e começam a apresentar um melhor fornecimento de volumoso aos animais que serão postos para o protocolo ao decorrer da estação.

Hafez, (2004) afirma que na espécie bovina, a estacionalidade na reprodução não está presente, o que favorece o estabelecimento da estação de monta de acordo com o manejo, objetivo, nutrição, clima e disponibilidades da propriedade, sendo que estes são as principais exigências do ponto de vista fisiológico para que os animais respondam ao protocolo no qual serão submetidos, o que não acontece se estão, por exemplo, desnutridos.

Também durante o ano de 2023, o gráfico a seguir (Gráfico 1) demonstra que o Centro de Biotecnologias de Reprodução atendeu ao todo 161 propriedades, distribuídas em 11 municípios do APL lácteos, sendo eles Aurilândia (Aur.), Buriti (Bur.), Cidade de Goiás (Goi.), Faina (Fai.), Firminópolis (firm.), Israelândia (Isr.), Itaberaí (Ita.), Mossâmedes (Mos.), Paraúna (Par.), Sanclerlândia (San.) e São Luís de Montes Belos (Slmb.), onde foram realizados ao todo um total de 1.165 inseminações, sendo administradas em cada propriedade cerca de dois protocolos, obtendo 970 prenhes confirmadas, chegando a um resultado excelente de 83% de prenhes ao final da estação de monta no APL lácteos de janeiro a novembro, período no qual se deu a administração dos protocolos.

Gráfico 1: Número de animais inseminados e prenhes.

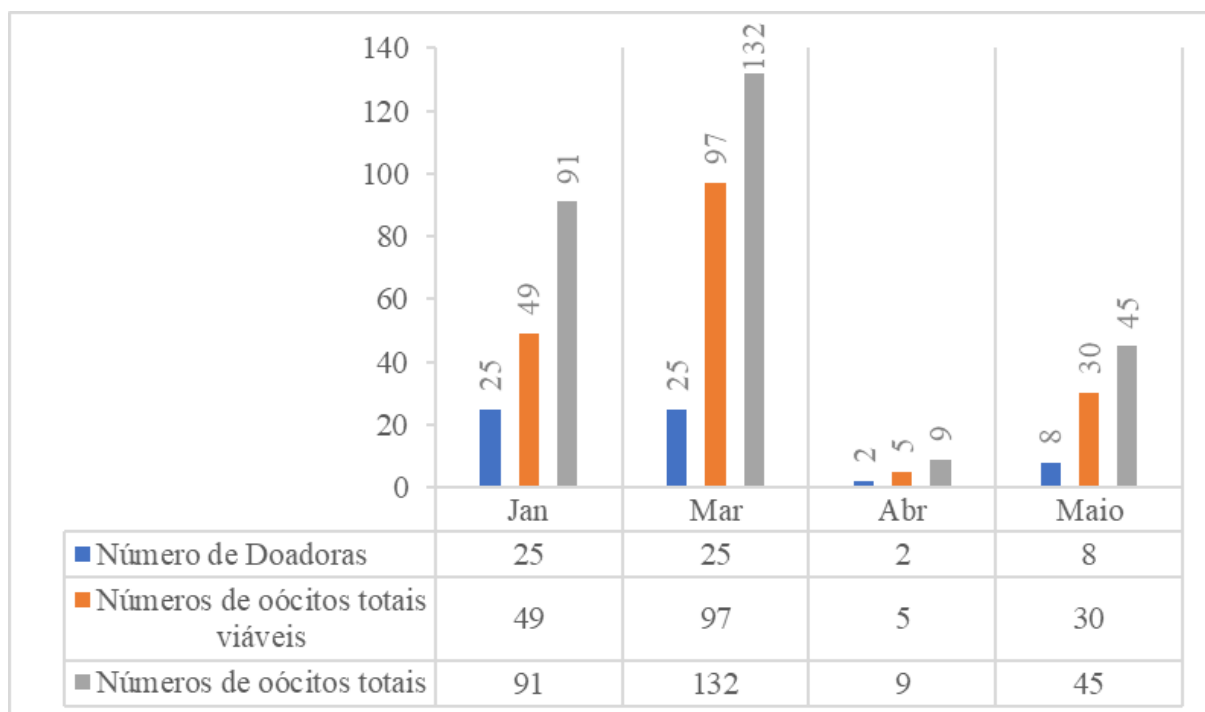


O número de animais protocolados difere do número e animais inseminados, devido a problemas comuns em propriedade rurais, no que se justifica na não contenção dos animais e fatores externos, tais como morte de animal, venda ou outro tipo de perdas que venha acontecer nas pequenas propriedades da região.

Para a região do APL Lácteos, 83% ao final da estação mostra-se satisfatório, uma vez que os pequenos produtores da região enfrentam dificuldades para manter o ECC dos animais durante o ano todo, quesito importante para. Haddad e Mendes (2010), onde se observa uma degradação considerável de pastagens e falta de condições para o fornecimento de suplementos alimentares, corroborando com o trabalho, segundo ele 80% de prenhez é considerado meta em muitas propriedades que usam da IATF como principal ferramenta de reprodução.

ASPIRAÇÃO DE OÓCITOS E TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES (TE)

Gráfico 2: Média de produção de oócitos por aspiração.



Os animais do APL Lácteos, na sua maioria, não possuem condições de receber a técnica de TE, uma vez que as condições de ECC é fundamental para o sucesso desta biotecnologia.

O quantitativo de oócitos viáveis em relação ao total aspirado das doadoras do BIOTEC, está representado no gráfico 3, apresenta média de 65,34%, mostrando-se satisfatório. Comparado ao trabalho realizado por Pinheiro et al., (2022), que avaliou 571 doadoras submetidas a técnica de aspiração, apresentaram média de recrutamento de oócitos viáveis comparados ao total de 32,67%.

O BIOTEC possui a taxa média de conversão de embrião em torno de 35%. Segundo as informações do gráfico 3, durante o período de 2023 obtivemos um total de oócitos viáveis para

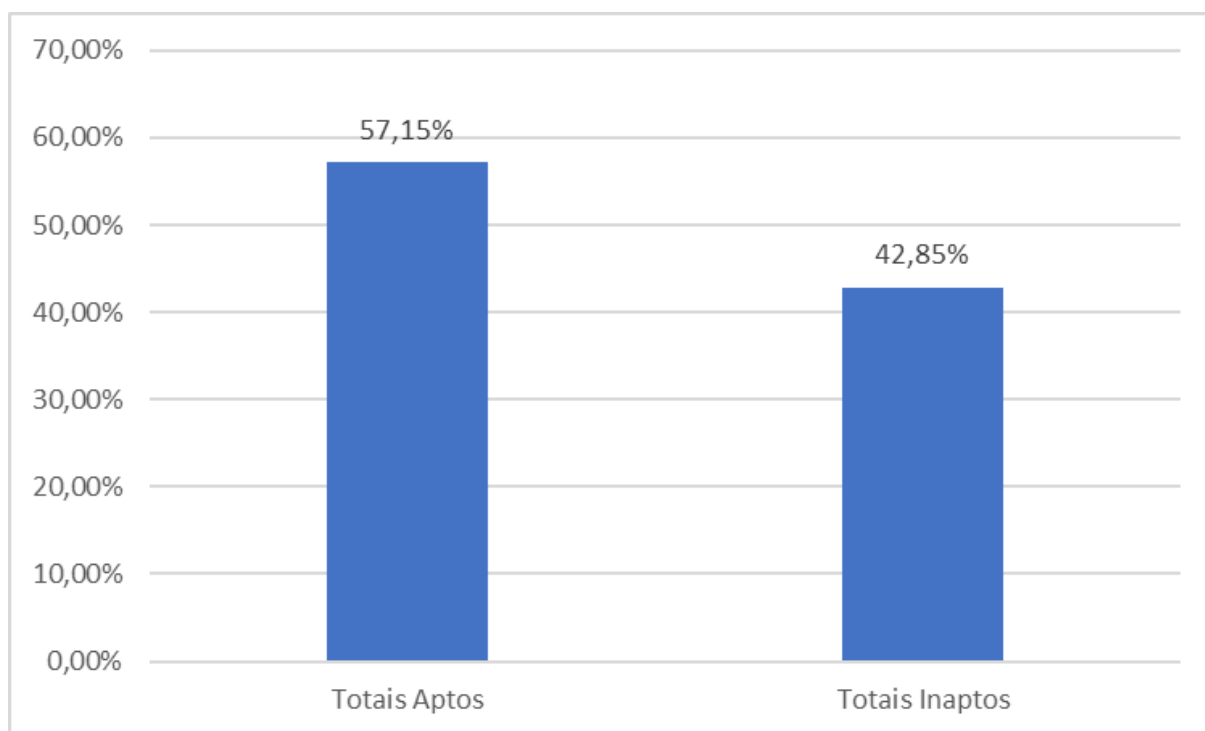
PIV de 181 estruturas, assim, o quantitativo de embriões produzidos no período de 2023 é de aproximadamente 63 produtos.

No entanto, deve se considerar que a TE, é a mais delicada e exigente das biotecnologias reprodutivas, o que se tornou o grande empecilho à plena realização, em função de problemas enfrentados de má gestão, sendo principalmente a falta de planejamento para o período de seca, resultando em um mal estado nutricional.

COLETA E CRIOPRESERVAÇÃO DE SÊMEN BOVINO

Diante dos exames andrológicos realizados no ano de 2023, percebeu-se que 57,15% das doses espermáticas analisadas, foram considerados aptos, seja para a monta natural, seja para a congelação do material genético, visando a IATF, e 42,85% foram considerados inaptos, pois não atingiram os parâmetros exigidos segundo a CRBA (2013).

Gráfico 3: Proporção do resultado do exame andrológico.



Ressaltando ainda, que os touros inaptos não são direcionados a reprodução, nem como congelação de sêmen. Ainda no decorrer do ano de 2023, para as inseminações no APL Lácteos, foi realizado congelação de sêmen chegando ao número de 700 palhetas congeladas para uso interno e outras 800 palhetas de sêmen foram congeladas para uso dos clientes do BIOTEC.

CONCLUSÃO

Observou-se com este estudo, que as Biotecnologias de reprodução exerceram um papel fundamental no APL lácteo do Oeste goiano, onde foi possível obter sucesso de 80% nos protocolos de IATF administrados nas propriedades assistidas ao final da estação de monta de 2023.

Ademais, foi possível também ver o sucesso em outras partes das Biotecnias, como as coletas espermáticas, andrológicos, congelamento das doses de sêmen, aspiração folicular e transferência de embrião, percebendo as mudanças significativamente positivas geradas em todas as propriedades assistidas.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Valor Bruto da Produção Agropecuária. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília, DF, 2019.

CRBA. O Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal (3.ed.) – 2013.

FREITAS, Daniela Assis de; DAMACENO, Edmara de Souza; SANTOS, Vanessa de Souza dos. IATF (Inseminação Artificial em Tempo Fixo) na bovinocultura leiteira. 2022.

HADDAD, C. M.; MENDES, C. Q.; Manejo da estação de monta, das vacas e das crias. In: PIRES, Alexandre Vaz (Ed.). **Bovinocultura de corte**. Piracicaba: Fealq, 2010. v.1, cap. 7, p.129-141.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**, 7.ed. Barueri-SP: Editora Manole, 513p, 2004.

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Valor Bruto da Produção Agropecuária**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília, DF, 2022. Disponível em: < <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/vbp-e-estimado-em-r-689-97bilhoes-para-2020/202003VBPelaspeyresagropecuariapdf.pdf> >. Acesso em: 15 jun. 2020.

PINHERO, A. K. et al. Parâmetros produtivos e genéticos da produção in vitro de embriões Nelore no Estado do Acre. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 7, e45311730210, 2022.

TANEJA, M.; BOLS, P.E.J.; VELDE, V. Development competence of juvenile calf oocytes in vitro and in vivo: influence of donor animal, variation and repeated gonadotropin stimulation. **Biology Reproduction, Champaing**. v. 31. pag. 67-73, 2000.

TORRES JUNIOR, J. R. S.; MELO, W. O.; ELIAS, A. K. S.; RODRIGUES, L. S.; PENTEADO, L.; BARUSELLI, P. S. Considerações técnicas e econômicas sobre reprodução assistida em gado de corte. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.33, n.1, p.53-58, jan/mar. 2009.

VAGARO, F. C.; MENDONÇA, L. F.; LAGARES, M. A. Produção in vitro de embriões bovinos: estado da arte e perspectiva de uma técnica em constante evolução. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.32, n.2, p.100-109, abr./jun. 2008.