



CENTRO UNIVERSITÁRIO GOYAZES – UNIGOYAZES
MEDICINA VETERINÁRIA

**INFLUÊNCIA DA ASPIRAÇÃO FOLICULAR NA TAXA
DE CONCEPÇÃO DE NOVILHAS SUPER PRECOCE**

Igor Gonçalves Camargo de Souza

Orientador: Prof. Me. Fabrício Moreira Alves

Trindade - GO
2022

CENTRO UNIVERSITÁRIO GOYAZES – UNIGOYAZES
MEDICINA VETERINÁRIA

**INFLUÊNCIA DA ASPIRAÇÃO FOLICULAR NA TAXA
DE CONCEPÇÃO DE NOVILHAS SUPER PRECOCE**

Igor Gonçalves Camargo de Souza

**Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Centro Universitários
Goyazes – UniGoyazes como requisito
parcial à obtenção do título de Bacharel em
Medicina Veterinária.**

Orientador: Prof. Me. Fabrício Moreira Alves

Trindade - GO
2022

Igor Gonçalves Camargo de Souza

**INFLUÊNCIA DA ASPIRAÇÃO FOLICULAR NA TAXA
DE CONCEPÇÃO DE NOVILHAS SUPER PRECOCE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Centro Universitários Goyazes –
UniGoyazes como requisito parcial à obtenção
do título de Bacharel em Medicina Veterinária,
aprovada pela seguinte banca examinadora:

Prof. Me. Fabrício Moreira Alves

Centro Universitário Goyazes

Prof. Dra. Bruna Paula Alves da Silva

Centro Universitário Goyazes

Prof. Dr. Bruno Moreira dos Santos

Universidade Estadual de Goiás

Trindade - GO

16/12/2022

Dedicatória

Dedico este trabalho de conclusão de curso a quem sempre esteve comigo durante este percurso da minha formação, lutando incansavelmente para que eu atingisse todos os meus objetivos, minha eterna gratidão à todos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus que me deu forças e me permitiu chegar até aqui, que me ajudou a vencer todos os obstáculos do caminho, me permitindo conquistar o sonho de ser Médico Veterinário.

À minha família, em especial minha mãe Erica, meu pai Marcio, minha tia Analice, minha avó Célia, meu padrinho Waldir Junior, e a minha madrinha Maristela, que me deram apoio e muitas vezes se dispuseram a me ajudar sempre que necessário.

Aos meus avós Euripedes e Lucy, que hoje se encontram ao lado de Deus zelando por mim, minha eterna gratidão e amor.

À minha companheira de vida Nathália, que sempre me apoiou, confiou no meu potencial e sempre esteve ao meu lado.

À família da minha companheira, em especial minha sogra Luzeni, que não medem esforços para me ajudar.

Ao meu amigo de graduação Guilherme, que percorreu esta longa jornada de estudos junto comigo, tornando nossa graduação mais leve e alegre.

Aos meus professores da graduação que contribuíram para a minha formação profissional, trago comigo os ensinamentos e as lembranças de cada um de vocês, por menor que tenha sido nossa convivência.

À todos que se fizeram presentes nessa caminhada, o meu muito obrigado!

INFLUÊNCIA DA ASPIRAÇÃO FOLICULAR NA TAXA DE CONCEPÇÃO DE NOVILHAS SUPER PRECOCE

Igor Gonçalves Camargo de Souza¹; Fabrício Moreira Alves²

RESUMO

A utilização de biotecnologias da reprodução pode proporcionar aumento significativo da produtividade, assim como maior retorno econômico à pecuária, já que possibilita eficiente multiplicação de animais de produção e rápido ganho genético do rebanho. A aspiração folicular guiada por ultrassom (OPU), é responsável pelo intenso aproveitamento do material genético de fêmeas superiores, além de proporcionar prole de fêmeas de alto valor genético, oriundas de animais com problemas reprodutivos adquiridos, novilhas pré-púberes, vacas gestantes e senis, sendo assim responsável pelo aumento da velocidade de multiplicação dos animais de alto valor genético e por uma grande pressão de seleção. A OPU juntamente com outras técnicas utilizadas na reprodução é responsável pelo aumento do índice reprodutivo na bovinocultura. O presente trabalho tem como objetivo relatar as atividades desenvolvidas no estágio curricular obrigatório, o qual foi realizado na área de Reprodução Animal, visando relatar a influência da OPU na taxa de concepção de novilhas super precoce ao final do protocolo de IATF, onde os resultados obtidos mostraram que, a taxa de concepção de novilhas doadoras que passaram pela OPU foram maiores em relação a taxa de concepção de novilhas não doadoras, com média de 5% de incremento nos resultados.

Palavras-chave: OPU, reprodução, fêmeas, animais.

INFLUENCE OF FOLLICULAR ASPIRATION ON THE CONCEPTION RATE OF SUPER EARLY HEIFERS

ABSTRACT

The use of reproduction biotechnologies can provide a significant increase in productivity, as well as a greater economic return to livestock, as it enables efficient multiplication of production animals and rapid genetic gain in the herd. Ultrasound-guided follicular aspiration (OPU) is responsible for the intense use of genetic material from superior females, in addition to providing offspring from females with high genetic value, from animals with acquired reproductive problems, prepubertal heifers, pregnant and senile cows, thus being responsible for the increase in the multiplication speed of animals of high genetic value and for a great selection pressure. The OPU along with other techniques used in reproduction is responsible for increasing the reproductive rate in cattle. The present work aims to report the activities developed in the mandatory curricular internship, which was carried out in the area of Animal Reproduction, aiming to report the influence of OPU on the conception rate of super precocious heifers at the end of the FTAI protocol, where the results obtained showed that the conception rate of donor heifers that underwent OPU were higher than the conception rate of non-donor heifers, with an average of 5% increase in results.

Keywords: OPU, reproduction, females, animals.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

Figura 1 - Representação esquemática dos órgãos genitais da vaca.....	19
Figura 2 - Esquema das etapas da foliculogênese nos ruminantes.....	20
Figura 3 - Etapas, estruturas ovarianas e endocrinologia do ciclo estral da vaca.....	22
Figura 4 - Novilha doadora.....	26
Figura 5 - Novilha não doadora	26
Figura 6 - Demonstração do protocolo de indução.....	26
Figura 7 - A: Veterinário realizando a OPU; B: Ultrassonografia da OPU; C: Veterinário realizando a OPU.....	27
Figura 8 - A: Imagem ultrassonográfica apresentando presença de CL; B: Hormônios utilizados no D0; C: Aplicação de dispositivo IV de P4; D: Novilhas com implante de P4.....	28
Figura 9 - Hormônios utilizados no D8.....	29
Figura 10 - Novilhas marcadas no D8.....	29
Figura 11 - A: Hormônio utilizado no D10; B: Mesa de IATF; C: Montagem do aplicador de sêmen.....	29
Figura 12 - A: Realização de DG; B: DG indicando novilha concebida; C: DG indicando novilha vazia.....	30

LISTA DE ABREVIATURAS

BE - Benzoato de Estradiol
CE - Ciclo Estral
CL - Corpo Lúteo
D24 - Dia 24 antes do protocolo de IATF
D12 - Dia 12 antes do protocolo de IATF
D0 - Início do protocolo de IATF
D8 - Após 8 dias do D0 do protocolo de IATF
D10 - Após 48 horas do D8 do protocolo de IATF
DG - Diagnóstico de Gestação
ECG - Gonadotrofina Cariônica Equina
FIV - Fertilização in vitro
FSH - Hormônio folículo-estimulante
GnRH - Hormônio liberador de gonadotrofina
IA - Inseminação Artificial
IATF - Inseminação Artificial em Tempo Fixo
LH - Hormônio luteinizante
MIV - Maturação in vitro
ML - Mililitro
OPU - Aspiração folicular guiada por ultrassom
PIV - Produção in Vitro
PGF2a - Prostaglandina
P4 - Progesterona
SOV - Superovulação
TE - Transferência de Embriões

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Fazendas, manejo e número de animais que foram atendidos durante o período de estágio.....	14
--	----

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – RELATÓRIO DE ESTÁGIO CURRICULAR SUPERVISIONADO..	13
1 IDENTIFICAÇÃO.....	13
1.1 Nome do aluno:..... Matrícula:.....	13
1.2 Nome do supervisor:.....	13
1.3 Nome do orientador:.....	13
2 LOCAL DE ESTÁGIO.....	13
2.1 Nome do local estágio:.....	13
2.2 Justificava de escolha do campo de estágio:.....	13
3 DESCRIÇÃO DO LOCAL E DA ROTINA DE ESTÁGIO.....	13
3.1 Descrição do local de estágio.....	13
3.2 Descrição da rotina de estágio.....	14
3.3 Resumo quantificado das atividades.....	14
CAPÍTULO 2 – RELATO DE CASO.....	15
1. INTRODUÇÃO.....	15
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
2.1 Aspecto Anatômico do Sistema Reprodutor das Fêmeas Bovinas.....	17
2.2 Foliculogênese.....	18
2.3 Puberdade.....	20
2.4 Ciclo Estral das Fêmeas Bovinas.....	21
2.5 Hormônios da Reprodução.....	22
2.6 Aspiração Folicular guiada por Ultrassom.....	23
2.7 Inseminação Artificial em Tempo Fixo.....	23

3. RELATO DE CASO - INFLUÊNCIA DA ASPIRAÇÃO FOLICULAR NA TAXA DE CONCEPÇÃO DE NOVILHAS SUPER PRECOCE.....	24
3.1 Avaliação das Novilhas.....	24
3.2 Indução à puberdade.....	25
3.3 Aspiração Folicular guiada por Ultrassom.....	26
3.4 Protocolo IATF.....	27
3.5 Diagnóstico de Gestação.....	28
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
5. CONCLUSÃO.....	30
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	31

CAPÍTULO 1 – RELATÓRIO DE ESTÁGIO CURRICULAR SUPERVISIONADO

1. IDENTIFICAÇÃO

1.1 Nome do aluno

Igor Gonçalves Camargo de Souza

Matrícula: 2018.1.001462

1.2 Nome do Supervisor

Rafael Araujo Braz CRMV-GO 06599

1.3 Nome do Orientador

Fabício Moreira Alves

2. LOCAL DE ESTÁGIO

2.1 Nome do local de estágio

Propriedades rurais onde a empresa Norte Agro presta serviços na área de reprodução veterinária.

2.2 Justificativa de escolha do campo do estágio

Atribuo a minha escolha pelo campo de estágio, em razão do meu interesse na área de reprodução bovina, portanto o conhecimento prático que o estágio curricular obrigatório permite vivenciar é de grande valia para meu desenvolvimento profissional.

3. DESCRIÇÃO DO LOCAL E ROTINA DE ESTÁGIO

3.1 Descrição do local de estágio

O estágio curricular obrigatório foi desenvolvido na Norte Agro, cuja sede fica localizada na cidade de Mara Rosa - Goiás. Especialista em reprodução bovina, a Norte Agro atende propriedades de pequeno à grande porte com serviços reprodutivos de excelência em todo país.

A Norte Agro detém de uma ampla lista de propriedades atendidas em diferentes cidades e estado, cabendo aqui mencionar alguma delas: Campinorte, Mara Rosa, Amaralina, Alto Horizonte, Estrela do Norte.

3.2 Descrição da rotina de estágio

A rotina de estágio iniciou-se no dia 02 de Setembro de 2022, perdurando até o dia 20 de Novembro de 2022.

O trabalho prestado nas propriedades rurais consistiu em manejo sanitário e reprodutivo de bovinos. Se tratando de manejo reprodutivo, é necessário seguir um protocolo onde cada ação a ser realizada nas propriedades tem os seus dias determinados. De forma resumida, as principais atividades acompanhadas foram protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF), aspiração de oócitos (OPU), transferência de embriões (TE), sexagem fetal, diagnóstico de gestação (DG), exames andrológicos e ginecológicos e manejo sanitário em bovinos.

Portanto, a empresa tinha sua rotina baseada nas atividades prestadas nas fazendas de todo país.

3.3 Resumo quantificado das atividades

Dentre todas as atividades realizadas no estágio curricular obrigatório, foram desenvolvidas algumas funções que abrangem a área de Reprodução Animal e Sanidade Animal e Controle Zootécnico, tais atividades desenvolvidas estão descritas na (Tabela 1).

O total se dá pela quantidade de diferentes manejos realizados nos animais.

Tabela 1 – Fazendas, manejo e número de animais que foram atendidos durante o período de estágio.

Fazenda	Manejo	Nº de animais
Tulipa Agropecuária	IATF	3176
	OPU	1100
	Indução	794
	DG	871
Indiara	IATF	1006

	Indução	701
	DG	234
	Sanitário	171
Marreta	IATF	133
	Indução	133
	Sanitário	301
Barra 2	IATF	54
	DG	60
Santa Rosa	DG	304
Planura	IATF	279
Poço da Pedra	IATF	248
Milhão	IATF	246
Moura	IATF	239
Joia do Brasil	IATF	296
Esperança	IATF	284
Girassol	Indução	118
Nelore 2D	IATF	260
Boa Esperança	DG	452
Girassol 2	IATF	225
Matão	IATF	14
TOTAL		11.699

Fonte: Dados pessoais.

CAPÍTULO 2 – RELATO DE CASO

1. INTRODUÇÃO

Devido ao grande crescimento na produtividade pecuária houve a necessidade do desenvolvimento de biotecnologias aplicadas à reprodução, principalmente na espécie bovina, que possui um longo intervalo entre partos e um baixo número de descendentes. (VARAGO, 2008).

Uma das maiores contribuições da Ciência para revolucionar a pecuária bovina brasileira foi a melhoria da genética do rebanho. A introdução do gado zebu no Brasil Central, por exemplo, foi essencial para a expansão nesta região e se tornou a base do rebanho brasileiro, onde outros avanços hoje ocorrem, com técnicas de fecundação *in vitro*, produção de embriões, clonagem etc. De importador de bovinos o Brasil passou para exportador de genética superior. (EMBRAPA, 2015).

A utilização de biotecnologias da reprodução pode proporcionar aumento significativo da produtividade, assim como maior retorno econômico à pecuária, já que possibilita eficiente

multiplicação de animais de produção e rápido ganho genético do rebanho. (HAFEZ & HAFEZ, 2004; USDA, 2016). A inseminação artificial (IA) e a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) são as biotécnicas que mais colaboram para a melhoria de índices reprodutivos e produtivos na pecuária (ASBIA, 2010).

Como explicado por Gonçalves (2008), inicialmente a inseminação artificial teve papel importante na disseminação de material genético. Posteriormente técnicas como o controle do ciclo estral, superovulação (SOV) e a transferência de embriões (TE) possibilitaram um aumento na multiplicação do material genético oriundos de fêmeas.

Posteriormente, a ultrassonografia foi descoberta como importante recurso para o monitoramento da atividade ovariana, somando-se as técnicas já existentes. A partir disto, surgiu a possibilidade de obtenção de oócitos de animais vivos, denominando-se aspiração folicular guiada por ultrassom (OPU), que foi responsável pelo intenso aproveitamento do material genético de fêmeas superiores, além de proporcionar prole de fêmeas de alto valor genético, oriundas de animais com problemas reprodutivos adquiridos, novilhas pré-púberes, vacas gestantes e senis, sendo responsável pelo aumento da velocidade de multiplicação dos animais de alto valor genético e por uma grande pressão de seleção (RENESTO, 2004).

A associação da OPU com a produção *in vitro* de embriões (PIV) permite a reprodução de animais saudáveis ou de animais que adquiriram problemas reprodutivos (DAYAN, 2001). A obtenção de oócitos através da OPU é uma etapa muito importante para a PIV, pois consiste na aspiração de folículos ovarianos das vacas doadoras por penetração do ovário e remoção do fluido folicular com os oócitos. Após a obtenção, os oócitos irão passar pelos processos de rastreamento, seleção e maturação *in vitro* (MIV) para depois serem fertilizados (FARIN, 2004). Enfim, para a fertilização *in vitro* (FIV), serão utilizados os oócitos da doadora após o processo de MIV, os quais serão cultivados com os espermatozoides de um touro previamente selecionado para realizar a fecundação. (LEIVAS, 2004).

A produção de novilha super precoce apresenta vantagens na bovinocultura como, por exemplo, reduzir a idade ao primeiro parto, aumentar a taxa de progresso genético através da redução do intervalo de gerações, reduzir a idade de abate e conseqüentemente da vida produtiva, bem como a diminuição do custo do animal na propriedade, possibilitando alcançar a máxima produtividade que o animal pode oferecer, trazendo como consequência um maior retorno financeiro ao produtor (CORDEIRO; SOUZA; SATRAPA, 2016).

O presente trabalho apresenta como objetivo observar a influência da OPU na taxa de concepção de novilhas super precoce ao final do protocolo de IATF.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Aspecto Anatômico do Sistema Reprodutor das Fêmeas Bovinas

Os órgãos e estruturas que correspondem à porção interna do sistema reprodutor feminino incluem primeiramente a vagina, que é o órgão copulatório feminino no qual tem função exclusivamente reprodutivo que está situada entre o reto e a vesícula urinária, prolongando-se do óstio uterino externo até o óstio externo da uretra (DYCE; SACK; WENSING, 2010). Na parte cranial ao óstio uretral existe uma prega transversal chamada de hímen, que pode ser mais perceptível de acordo com o animal (SOARES; JUNQUEIRA, 2018).

A parede da vagina é fina e seu comprimento é considerado longo com o pronunciamento do colo que restringe o lúmen cranial do órgão ao fórnice (KONIG; LIEBICH, 2016). A parte caudal da vagina é conhecida como vestibulo da vagina, que vai do óstio externo da uretra até a vulva externa (DYCE; SACK; WENSING, 2010). A partir dessa porção, a função passa a ser também a de ajudar na expulsão de líquidos pelo sistema urinário, que na face ventral é formado uma invaginação da uretra chamada de divertículo suburetral, que segue o movimento da uretra ao abrir, na qual é possível visualizar os ductos mesonéfricos vestigiais (KONIG; LIEBICH, 2016).

Existem glândulas vestibulares na parede do vestibulo que são responsáveis pela secreção que facilita o coito, parto, mantem a umidade da mucosa ideal, e ainda estimula o macho no período fértil (SOARES; JUNQUEIRA, 2018). A vulva é localizada na porção mais caudal do sistema reprodutor, é formada por dois lábios e uma abertura vulvar vertical, onde dorsalmente é arredondada e ventralmente é aguda (SOARES; JUNQUEIRA, 2018). O clitóris possui um corpo e uma glândula, já o local onde ele é localizado é chamado de fossa clitoriana, o qual é coberto por pregas de mucosa (HAFEZ, 2004).

Posteriormente, a porção interna do sistema reprodutor feminino incluem o vestibulo, cérvix, que serve como barreira e impede a passagem direta para o útero, o qual é o órgão que abriga o feto durante a gestação, dividido em dois cornos, que se enrolam ventralmente sobre si, corpo e cérvix (DYCE; SACK; WENSING, 2010). Sua origem vem a partir dos ductos

paramesonéfricos direito e esquerdo, que formam os cornos e em seguida se unem para formar o corpo do útero, e no espaço entre os cornos mais proximal ao corpo do útero é formado os ligamentos intercornuais (KONIG; LIEBICH, 2016). Essa trajetória tubular liga o oviduto à cérvix, este último que é responsável por controlar o acesso ao útero, através do canal cervical obstruído pelas pregas circulares e mucosa cervical (HAFEZ, 2004).

O útero é mais um dos órgãos internos junto com os ovidutos e ovários. Os ovários são responsáveis pela produção dos gametas feminino e hormônios, os ovários estão localizados na região lombar da face medial do mesonefro, com formato ovoide firme, que em sua superfície surge os corpos lúteos e folículos que se projetam em relação ao órgão, os quais podem ter de 5 mm a 2 cm, entretanto, são detectados pela palpação retal (HAFEZ, 2004).

A unidade funcional do ovário são os folículos, os quais proporcionam ambiente ideal para desenvolvimento completo dos oócitos, e ainda são produtoras de hormônios (KONIG; LIEBICH, 2016). O complexo cumulus oócitos se trata de um conjunto de células da granulosa que rodeia o oócito (HAFEZ, 2004). A corona radiata é um emaranhado de células próxima da zona pelúcida que circunda o oócito por ligações intercomunicantes, estas que ainda estão rodeadas por células foliculares. O folículo se projeta para fora do ovário quando o oócito está prestes a ser liberado (BERLITZ, 2019).

Já os órgãos e estruturas que correspondem à porção externa é representada por clitóris, que é localizada um pouco mais abaixo do óstio externo da uretra, e lábios vulvares. Internamente esses órgãos são sustentados pelo ligamento largo, que envolto na porção do ovário é chamado de mesovário (Figura 1), quando envolto no oviduto é chamado de mesossalpinge, e de mesometria quando envolto na região do útero (KONIG; LIEBICH, 2016).

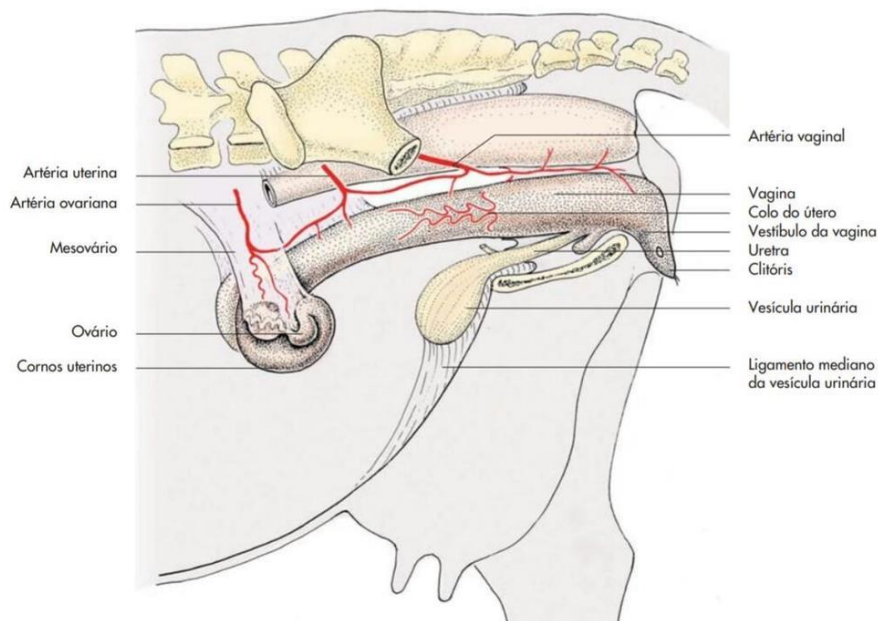


Figura 1 - Representação esquemática dos órgãos genitais da vaca. Fonte: (Konig; Liebich, 2016).

2.2 Foliculogênese

O folículo é uma unidade morfofuncional do ovário, constituída por oócitos circundados por células somáticas da granulosa e da teca. A função destes folículos é proporcionar o ambiente ideal para viabilidade, crescimento e maturação oocitária (GRUNERT et al, 1984).

A foliculogênese refere-se ao crescimento desses folículos desde o estágio primordial até o estágio pré-ovulatório, envolvendo etapas de ativação, crescimento e maturação, e envolve uma série de mudanças em componentes da parede folicular como células da teca, granulosa e ovócito. Esta se dá simultaneamente a oôgenese, sendo 24 procedente e concluída com a ovulação do oócito e posterior fecundação (GONÇALVES et al, 2008).

Os folículos primordiais, primários e secundários aparecem no ovário fetal com 90, 140 e 210 dias de gestação respectivamente (RUSSE, 1983). Sua ativação é caracterizada pela aquisição de uma camada completa de 11-20 células cubóides da granulosa ao redor do oócito, formando o folículo primário. Já o folículo secundário, é caracterizado pela segunda camada de células da granulosa de forma cúbica, pela deposição do material genético na zona pelúcida e pela formação de grânulos corticais no citoplasma do ovócito (FAIR et al, 1997).

Na transição para folículos terciários, também chamados de antrais, ocorrem determinadas modificações como o desenvolvimento da teca interna e externa e a formação da cavidade antral, repleta de fluido (DRIANCOURT, 1991).

O crescimento e desenvolvimento destes folículos (Figura 2), ocorrem sincronicamente, em determinados períodos do ciclo estral, devido às ondas de crescimento folicular, sendo cada onda precedida de um pico de hormônio folículo estimulante (FSH). As ondas estão presentes em fêmeas com duas semanas de idade (EVANS et al, 1994), e o crescimento no diâmetro destes folículos ocorre da 2ª a 14ª semana de idade. Embora o crescimento destes seja efetivado pela secreção de gonadotrofinas, este é suprimido até a puberdade e início da vida reprodutiva da fêmea (RAWLINGS et al, 2003).

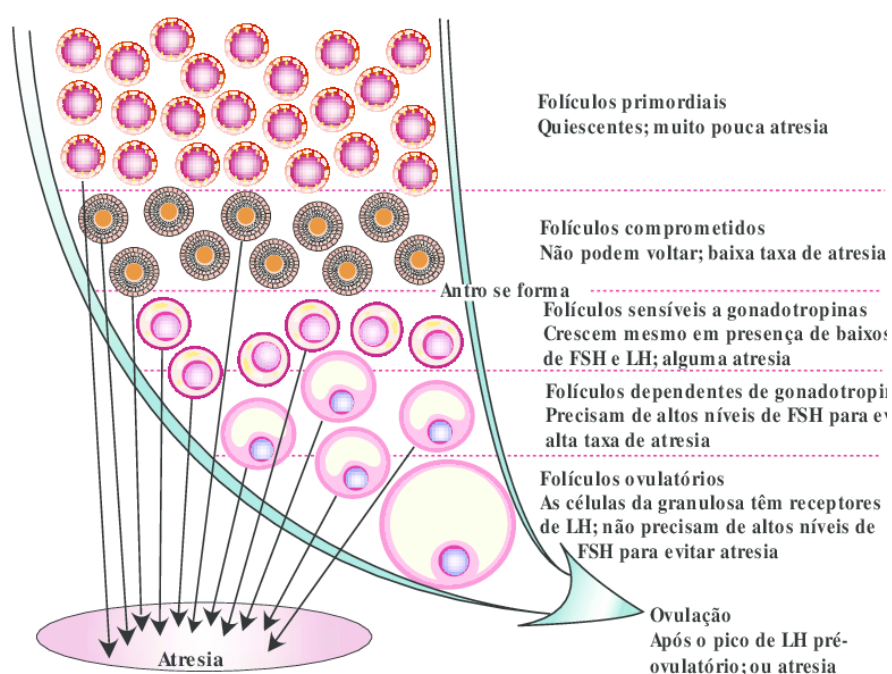


Figura 2 - Esquema das etapas da foliculogênese nos ruminantes. Fonte: (GONÇALVES, 2008).

2.3 Puberdade

A puberdade é o momento em que os órgãos reprodutivos iniciam sua função, atingida quando o animal se torna capaz de liberar gametas e manifestar sinais de comportamento sexual. É o resultado de um ajuste gradativo entre o aumento da atividade gonadotrófica e a habilidade das gônadas em assumir simultaneamente a esteroidogênese e a gametogênese (HAFAZ, 2004).

A idade do aparecimento da puberdade é influenciada por diversos fatores. Entre eles está intimamente relacionada à nutrição e o crescimento logo após o desmame, o meio ambiente, a idade e a raça (FONSECA, 1996; PINEDA, 1996). Em termos médios estima-se que a puberdade ocorra no gado de corte quando se atinge 40-45% do peso adulto do animal,

apresentando uma variação de até 12 meses em raças zebuínas, consideradas mais tardias (GRUNERT et al, 1984).

A precocidade sexual da fêmea bovina pode ser mensurada por meio da idade à puberdade ou idade ao primeiro parto, que pode ser definida como a rapidez de desenvolvimento dos tecidos ou taxa de crescimento, que permite atingir determinada proporção do peso adulto e a expressão das características relacionadas com a puberdade (Cartwright, 1970; Lanna & Packer, 1997).

2.4 Ciclo Estral das Fêmeas Bovinas

Passada a puberdade é iniciada a vida sexual e o Ciclo Estral (CE), este que é definido como o intervalo entre um estro e outro (BINELLI et al, 2001).

Conhecer a fisiologia da reprodução das fêmeas bovinas é fundamental para o entendimento dos eventos responsáveis pela produção do oócito e ovulação e pelo comportamento sexual das fêmeas (ciclo estral). O ciclo estral é controlado, principalmente, por hormônios produzidos pelo hipotálamo (GnRH), hipófise anterior (FSH e LH), ovários (estradiol e progesterona) e útero (PGF2a). Tais hormônios são responsáveis por controlar o momento da ovulação, que pode ser seguida por uma gestação, caso ocorra a fecundação, ou por um novo ciclo estral. (NICIURA, 2008).

Segundo Grunert et al (1984), o ciclo estral de bovinos possui uma periodicidade de 21 dias e é constituído por duas fases distintas, a fase folicular (proestro ao estro) onde temos a regressão corpo lúteo e consequente queda da progesterona, formação do folículo e liberação de estrógeno, correspondendo a aproximadamente 20% do CE. E também a fase luteínica (metaestro e diestro), onde ocorre a ovulação, formação do corpo lúteo, queda do estrogênio e aumento da progesterona, correspondendo a 80% do CE (SENGER, 2003).

Dentro destas duas fases citadas, existem quatro subdivisões onde o CE é dividido detalhadamente (Figura 3). O conhecimento destas fases e de suas alterações anatômicas e fisiológicas é de suma importância para o manejo reprodutivo. (RATHBONE et al, 2001).

Pró-estro: é a fase que antecede o estro, ocorrendo o início do desenvolvimento folicular. Possui duração de três dias e ocorre o aumento progressivo dos níveis de estrógeno, crescimento folicular e regressão do corpo lúteo, aumento da vascularização do endométrio e

do tônus uterino. (FERREIRA, 2010).

Estro: é a fase onde a fêmea apresenta sintomas comportamentais visíveis de cio, há a sua receptividade sexual com a aceitação do macho, devido aos altos níveis de estrógeno. Possui duração variável de acordo com a raça, tendo uma média de 18 horas. (GRUNERT et al, 1984). É caracterizado pela presença de muco, intensa hiperemia de mucosas e o canal cervical encontra-se aberto.

Metaestro: é a fase em que ocorre a ovulação e início da formação do corpo lúteo. Sua duração é em média 3-5 dias e a ovulação ocorre de 24-30 horas após o início do cio. (HAFEZ et al, 2004).

Diestro: é a maior fase do CE e dura aproximadamente 14 dias, onde há o repouso sexual e o predomínio da progesterona. Nota-se a maturidade completa do corpo lúteo (CL) e, ao final, não havendo prenhez, há liberação de prostaglandina $F2\alpha$, para devida lise do CL e o reinício de um novo ciclo (GRUNERT et al, 1984).

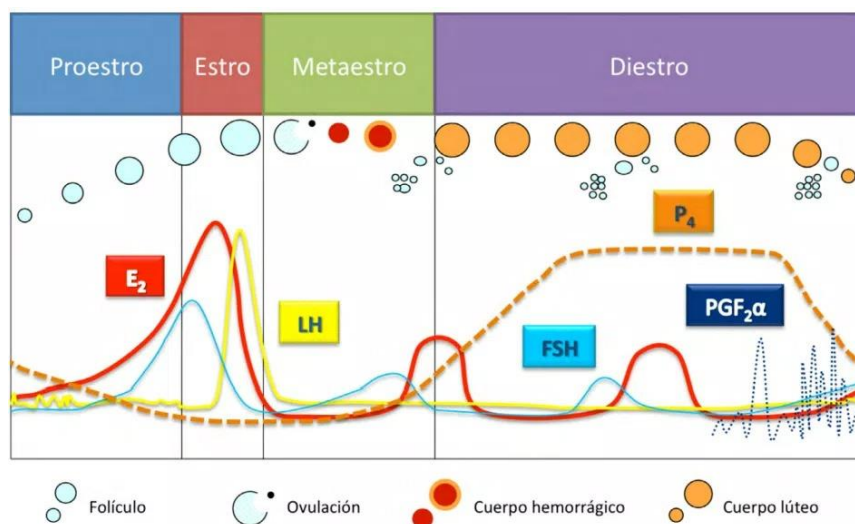


Figura 3 - Etapas, estruturas ovarianas e endocrinologia do ciclo estral da vaca. Fonte: (RANGEL, 2018.)

2.5 Hormônios da Reprodução

O conhecimento do ciclo estral e do papel desempenhado por cada hormônio envolvido no seu controle é imprescindível para fazer a escolha do melhor a ser utilizado a fim de otimizar o manejo reprodutivo dos bovinos (FERREIRA, 2010).

Hormônios do hipotálamo, hipófise, ovário e útero controlam as mudanças no trato genital e comportamento sexual através de diversas interações (GRUNERT et al, 1984).

Entre os principais, podemos citar o hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) o qual é secretado pelo hipotálamo e é responsável por estimular a hipófise a liberar FSH (hormônio folículo estimulante) que está diretamente ligado ao crescimento folicular, e liberação de LH (hormônio luteinizante), que estimula a ovulação do folículo dominante e atua na formação do corpo lúteo (FERREIRA, 2010).

A hipófise anterior produz o FSH, que atua na estimulação e desenvolvimento folicular com hiperplasia das células da teca e da granulosa do ovário. Chega aos ovários através da corrente sanguínea e sua ação baseia-se no estímulo e desenvolvimento dos folículos, fazendo com que cresçam e ovulem, ou degenerem. (FERNANDES, 1999).

O estrógeno é produzido pelos folículos dominantes, no ovário, atuando no sistema nervoso central, induzindo assim o comportamento de cio na fêmea, promovendo aceitação ao macho, determinando as características sexuais secundárias e estimulando a libido. Também produzido na hipófise anterior o LH atua nos ovários, estimula a ovulação e promove a maturação e formação do corpo lúteo, o qual produzirá, por sua vez, progesterona (P4) (FERNANDES, 1999; GONÇALVES et al, 2008; HAFEZ, 2004).

A progesterona atua bloqueando a ação de GnRh, impedindo desta maneira a liberação de FSH e LH, o retorno ao cio, mantendo a gestação. O pico da P4 é atingido por volta de 5 a 7 dias após a formação do CL (FERNANDES, 1999).

A Prostaglandina F2 alfa (PGF2 α) produzida pelo endométrio, é responsável pela luteólise, fazendo assim, a regressão do corpo lúteo e reiniciando o ciclo (FERNANDES, 1999). A PGF2 α também é produzida pela placenta na ocasião do parto (FERREIRA, 2010)

2.6 Aspiração Folicular guiada por Ultrassom

Na década de 80, a aspiração folicular era realizar por meio da laparotomia e da laparoscopia, tais técnicas eram bastante invasivas, causando lesões nos animais. Pensando em uma técnica menos invasiva para a recuperação de oócitos, PIETERSE & KAPPEN (1988) descreveram a técnica de aspiração folicular transvaginal guiada pela ultrassonografia ou OPU (ovum pick up) pela primeira vez e, desde então, ela vem sendo utilizada na multiplicação de fêmeas de elevado valor zootécnico. A OPU basicamente consiste em coletar por meio da punção folicular, de forma repetida, os oócitos dos folículos produzidos pelo útero da fêmea

bovina.

Nos últimos anos a OPU tem se tornado uma prática bastante realizada em fêmeas bovinas doadoras de oócitos. Essas fêmeas podem atingir uma produção média de 25 produtos por ano, o que supera significativamente os índices da transferência de embriões (GONSALVES et al., 2002).

2.7 Inseminação Artificial em Tempo Fixo

A Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF), é uma técnica que possibilita sincronizar a ovulação das fêmeas bovinas após a administração de medicamentos em dias predeterminados. Sendo assim, é possível a sincronização de um lote de vacas e inseminação de todas no mesmo dia, tornando este lote de vacas padronizado. (CPT, 2021).

O avanço genético e a rentabilidade na bovinocultura são atingidos quando se preconiza o uso de biotecnologias no manejo reprodutivo do rebanho. Visto isso, os protocolos de IATF tendem a aumentar eficiência reprodutiva dos rebanhos bovinos, aplicando hormônios exógenos para induzir a emergência de uma nova onda folicular, controlar a duração desta até o estágio pré-ovulatório, controlar a inserção e a retirada da fonte de progesterona exógena (dispositivo intravaginal) e endógena (corpo lúteo e o processo de luteólise) e induzir a ovulação sincronizada de todos os animais em um mesmo momento, simulando e controlando assim o ciclo estral das vacas (CASTILHO, 2015).

A utilização de protocolos de IATF possibilita o adiantamento na concepção e na parição dentro das estações reprodutivas relacionadas nos rebanhos bovinos, beneficiando então um aumento na probabilidade de nova prenhez na estação subsequente. Além disto, a concentração do nascimento de bezerros em um determinado período do ano proporciona a formação de lotes mais homogêneos (Gottschall et al, 2012).

Muitos protocolos de IATF já foram e continuam sendo disponibilizados no mercado, dentre os principais utilizados atualmente na bovinocultura de corte estão o protocolo de três manejos, protocolo de quatro manejos e o Protocolo Ovsynch.

3. RELATO DE CASO: INFLUÊNCIA DA ASPIRAÇÃO FOLICULAR NA TAXA DE

CONCEPÇÃO DE NOVILHAS SUPER PRECOCE

O protocolo foi realizado na fazenda Tulipa Agropecuária, localizada na cidade de Campinorte - Goiás, durante o período de Agosto à Novembro. Ao todo, foram utilizadas 663 novilhas CEIP, entre doadoras e não doadoras, sendo 283 doadoras e 380 não doadoras, com idade entre 10 e 12 meses.

3.1 Avaliação das novilhas

Para iniciar o protocolo, primeiramente foi realizado a avaliação das novilhas, realizando exames ultrassonográficos do trato reprodutivo, observação se elas se encontravam em um bom controle sanitário e livres de condições estressantes.

As novilhas são criadas em sistema intensivo (confinamento), e submetidas a uma alimentação adequada à sua exigência nutricional.

Posteriormente a avaliação, foi feita as escolhas das novilhas doadoras e das não doadoras, separando-as em lotes, onde as doadoras são as novilhas que irão passar pelo processo de OPU para então ser realizado a IATF, e as novilhas não doadoras que não passarão pelo processo de aspiração folicular antes da IATF.

Ambos lotes de novilhas, doadoras e não doadoras, são aptas a realizar o protocolo de IATF, porém somente as novilhas doadoras irão passar pelo processo de OPU, trazendo a então comparação dos resultados do protocolo de IATF dos dois lotes, onde um foi realizado a OPU e o outro não, levantando a discussão se o tal processo influencia ou não na taxa de concepção de novilhas super precoce.



Figura 4 – Novilha doadora

Fonte: (Arquivo pessoal)



Figura 5 – Novilha não doadora

Fonte: (Arquivo pessoal)

3.2 Indução à puberdade

As novilhas do presente relato eram filhas de vacas já desafiadas à precocidade e carregavam uma genética positiva a esse critério avaliativo. Ao todo foram utilizadas 663 novilhas da raça Nelore, com idade média de 10-12 meses e peso médio de 370kg.

Como todas as novilhas já haviam sido avaliadas e pesadas não foi preciso realizar este processo novamente. No início da indução (D-24), as novilhas receberam um dispositivo intravaginal de 0,5g de P4 (Repro one®) e após 12 dias (D-12) o dispositivo foi retirado e foi aplicado 0,3ml de Cipionato de Estradiol (Cipion®). Por fim, 24 dias após o início da indução e 1 semana antes de iniciar o protocolo de IATF, os animais iniciaram o processo de aspiração folicular.

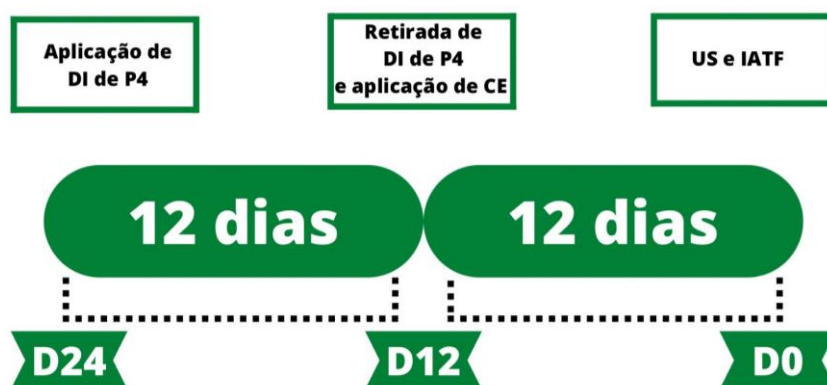


Figura 6 - Demonstração do protocolo de indução. Fonte: (Dados pessoais)

3.3 Aspiração Folicular guiada por Ultrassom

Uma semana antes de iniciar o protocolo IATF, se deu início à OPU.

Inicialmente, as novilhas doadoras foram colocadas no brete, de maneira calma evitando ao máximo o estresse.

O veterinário inicia o procedimento realizando a palpação retal para verificar as condições dos ovários, e posteriormente realiza a retirada das fezes do reto do animal, para facilitar o manuseio tanto do útero quanto dos ovários. Após isso, foi realizado a anestesia epidural com 2 ml de lidocaína, com a finalidade de promover a insensibilização tanto da cauda como do útero.

A aspiração a campo foi realizada com o auxílio de ultrassonografia e um transdutor, que é acoplado à guia de aspiração, realizada com uma agulha em sua extremidade e conectada a uma bomba a vácuo que permite a recuperação dos ovócitos e do líquido folicular, levando-os direto para um tubo de 50 ml. Desta maneira, o aparelho de ultrassom permite uma melhor visualização dos folículos (Figura 6) e a bomba à vácuo permite a aspiração do líquido, levando-o direto para o aquecedor de tubos e mantendo-os na temperatura de 36°C.

Posteriormente, os oócitos aspirados foram levados a um laboratório montado na fazenda para serem selecionados. Os oócitos considerados viáveis foram encaminhados ao laboratório responsável pela FIV, onde os prepararam para a transferência.



Figura 7 – A: Veterinário realizando a OPU; B: Ultrassonografia da OPU; C: Veterinário realizando a OPU.

Fonte: (Arquivo pessoal)

3.4 Protocolo IATF

Passada uma semana que as novilhas doadoras foram aspiradas, se iniciou o protocolo IATF. Esse protocolo será realizado em todas as novilhas, sendo elas as doadoras que foram aspiradas, e também as não doadoras que não passaram pelo processo da OPU.

Inicialmente, sempre preservando o bem-estar animal das novilhas, elas foram colocadas no brete de maneira calma e cuidadosa para que nenhuma atingisse o estresse.

No início do protocolo de IATF (D0), todas as novilhas tiveram os ovários avaliados para identificar a presença de CL e posteriormente receberam um dispositivo intravaginal de P4, e foram administrados 1,5ml de BE (Syncrogon®) e 2ml de PGF2a (Induscio®), em todos os animais, independente se havia CL ou não, isso faz com que ocorra o crescimento de uma nova onda folicular.



Figura 8 - A: Imagem ultrassonográfica apresentando presença de CL; B: Hormônios utilizados no D0; C: Aplicação de dispositivo IV de P4; D: Novilhas com implante de P4. Fonte: (Arquivo pessoal)

Após 8 dias (D8), houve a remoção do dispositivo intravaginal de P4 e a aplicação de 0,3ml de Cipionato de Estradiol (Cipion®), 2ml de PGF2a (Induscio®) e 1ml de eCG (eCGEN®). Foi realizado também a aplicação de tinta bastão como marcador de cauda para facilitar a identificação das fêmeas no cio.



Figura 9 - Hormônios utilizados no D8

Fonte: (Arquivo pessoal)



Figura 10 – Novilhas marcadas no D8

Fonte: (Arquivo pessoal)

Passadas 48 horas (D10), foi realizada a aplicação de 1ml de GnRH (Maxrelin®) e em seguida foi realizada a inseminação nas novilhas.

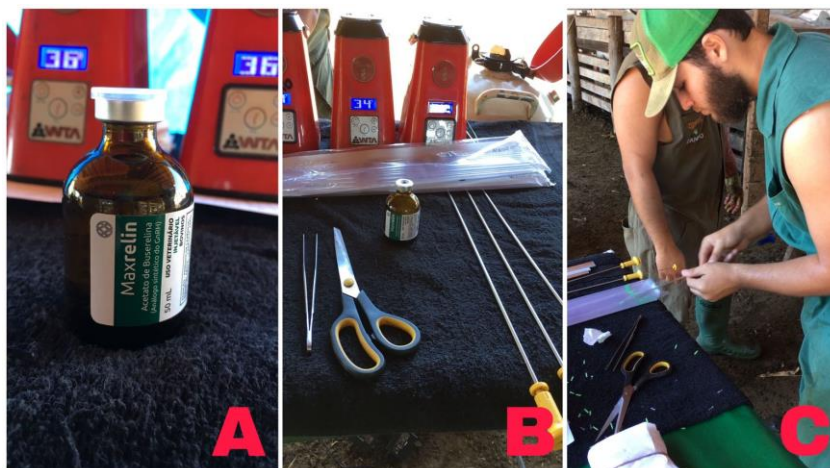


Figura 11 – A: Hormônio utilizado no D10; B: Mesa de IATF; C: Montagem do aplicador de sêmen

Fonte: (Arquivo pessoal)

3.5 Diagnóstico de Gestação

Passados 30 dias do D10, as novilhas foram colocadas novamente no brete para realizar o diagnóstico de gestação, este que foi por meio de ultrassonografia transretal. O DG é de suma importância para certificar se houve a concepção depois da realização do protocolo IATF.

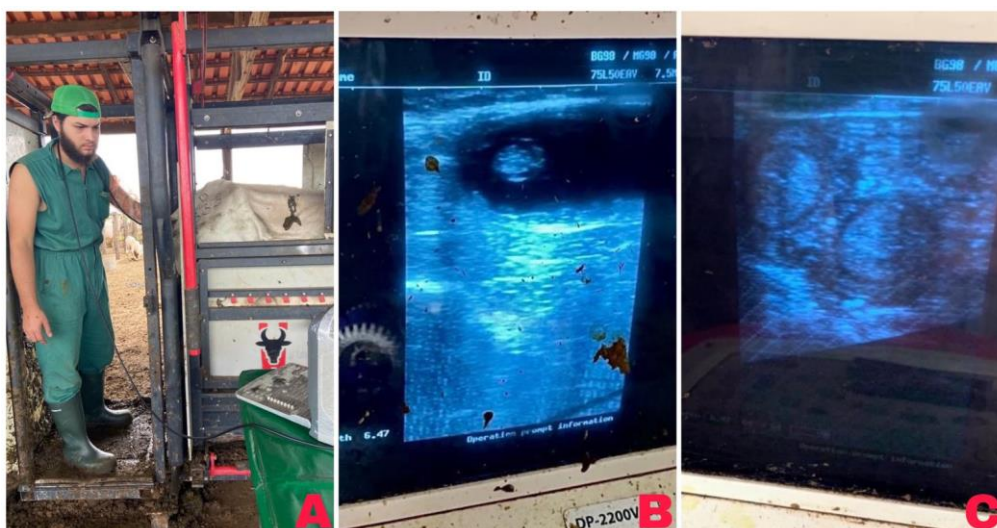


Figura 12 – A: Realização de DG; B: DG indicando novilha concebida; C: DG indicando novilha vazia.

Fonte: (Arquivo pessoal)

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao final da realização do DG obtivemos os números de 283 novilhas doadoras aspiradas, examinadas, protocoladas, inseminadas e diagnosticadas, e delas 207 foram concebidas, obtendo uma taxa de concepção de 73%.

Os números obtidos em razão das 380 novilhas não doadoras examinadas, protocoladas, inseminadas e diagnosticadas foram de 260 novilhas concebidas, obtendo então uma taxa de concepção de 68%.

Os resultados obtidos mostraram que, a taxa de concepção de novilhas doadoras que passaram pela OPU foram maiores em relação a taxa de concepção de novilhas não doadoras, com média de 5% de incremento nos resultados.

A taxa de concepção esperada dentro de um rebanho gira em torno de 50% a cada inseminação artificial, podendo obter maiores resultados se o animal estiver com manejo nutricional, sanitário e reprodutivo adequado (Baruselli, 2013). Em ambos os lotes de novilhas, doadoras e não doadoras, é possível observar uma taxa de aproximadamente 70% de prenhez na primeira IATF.

A aspiração folicular guiada por ultrassom favorece os programas de melhoramento genético. A técnica apresenta grande potencial quando comparada aos métodos convencionais de reprodução assistida, pois possibilita a recuperação de gametas diretamente

do ovário, independente da fase do ciclo estral. Entretanto, alguns estudos consideram a OPU um risco, por ser uma técnica onde os animais são puncionados podendo ocorrer uma lesão, prejudicando então os resultados dos animais submetidos a esta técnica e aos protocolos que a sucedem.

Com a utilização da técnica é possível obter o melhoramento genético dentro do rebanho através do uso de sêmen de alta qualidade (ADECE, 2013). O aumento de gestações oriundos de inseminação no rebanho reflete diretamente no resultado financeiro da propriedade, como apresentado nos resultados de índice de concepção dos dois lotes de novilhas super precoce comparados.

Desse modo, como mostra nos resultados obtidos, a OPU não prejudicou a integridade das novilhas doadoras, as quais foram submetidas a aspiração, pelo contrário, a taxa de concepção destas novilhas superaram a taxa de concepção das novilhas não doadoras, as quais não passaram pelo processo de aspiração, resultando em uma diferença de 5% entre elas.

Portanto, a OPU aliada a IATF se tornam grandes responsáveis por elevar o melhoramento genético em propriedades onde são aplicadas, trazendo assim um avanço na reprodução animal.

5. CONCLUSÃO

A técnica da aspiração folicular teve eficiência comprovada no presente relato, onde as novilhas super precoce que foram submetidas a OPU tiveram em média 5% a mais em sua taxa de concepção em relação as novilhas não submetidas a esta técnica.

A inseminação artificial em tempo fixo juntamente com a OPU trazem resultados satisfatórios ao produtor, o qual pode se obter animais de alto padrão genético em sua propriedade, trazendo a ele lucratividade.

O estágio curricular realizado foi de grande valia para o aumento da formação pessoal, técnica e profissional. Através dele foi possível obter conhecimentos do funcionamento das técnicas de Aspiração Folicular guiada por Ultrassom e Inseminação Artificial em Tempo Fixo que foram mostradas no relato de caso, dentre outras técnicas vivenciadas, colocando em prática informações adquiridas durante o curso de Medicina Veterinária.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADECE. Agência de Desenvolvimento do Estado do Ceará. **Programa de Melhoramento Genético Bovino**. Ceará. 2013.
- ASBIA. Associação Brasileira De Inseminação Artificial. **Manual de Inseminação de Artificial**. Uberaba – MG. 2010.
- BARUSELLI, P. S. **A sigla da qualidade superior dos bezerros**. IATF. Porto Alegre, n. 172. 16, p.12-18, nov. 2013.
- BERLITZ, C.G.B. **Impacto do estresse ambiental na reprodução de bovinos de corte**. Trabalho de Conclusão em Medicina Veterinária. Universidade Federal do Rio Grande Do Sul, 2019.
- BINELLI, M.; IBIAPINA, B. T.; BISINOTTO, R. S. Bases fisiológicas, farmacológicas e endócrinas de sincronização de crescimento folicular e da ovulação. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 34, p. 1-7, 2006.
- CARTWRIGHT, T.C. Selection criteria for beef cattle for the future. J. Anim. Sci., v.30, p.706-711, 1970.
- CASTILHO, E. F. IATF como ferramenta no melhoramento genético de bovinos de leite. In: CASTILHO, E. F. **Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) em Bovinos Leiteiros**. 1. ed. Maringá, 2015. Cap. 3. P 100-149. Disponível em: < <http://iepec.com/wp-content/uploads/2015/02/inseminacao-capitulo-3.pdf>>. Acesso em 14 nov. 2022.
- CORDEIRO, A. LL; SOUZA, F. A.; SATRAPA, R. A. Novilhas sexualmente precoces: Fisiologia e Importância econômica, 2016.
- DAYAN, A. **Fatores que interferem na produção de embriões bovinos mediante aspiração folicular e fecundação in vitro**. Dissertação – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Botucatu. UNESP. 2001.
- DYCE, K.M.; SACK, W.O.; WENSING, C.J.G. Tratado de anatomia veterinária. 4.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.
- DRIANCOURT, M.A. Follicular dynamics in sheep and cattle. Theriogenology, v.35, p.55-71, 1991.

EVANS, A. C. O.; ADAMS, G. P.; RAWLINGS, N. C. Endocrine and ovarian follicular changes leading up to the first ovulation in prepubertal heifers. **J. Reprod. Fertil.**, v. 100, p. 187-194, 1994.

FAIR, T; HULSHOF, S.C.J.; HYTTEL, P; BOLAND, M; GREVE, T. Bovine oocyte ultrastructure in primordial to tertiary follicles. *Anatomy and Embryology*, v.195, p. 327-336, Oslo, 1997.

FARIN CE, FARIN PW, PIEDRAHITA JA. Development of fetuses from in vitro produced and cloned bovine embryos. **J Anim Sci**, v.82, E-Suppl, p.E53-E62, 2004.

FERNANDES, C.A.C. **Alternativas para tratamento de retenção de placenta e gado de leite**. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v. 23, p. 442-444, 1999.

FERREIRA, A.M. **Reprodução da Fêmea Bovina: Fisiologia Aplicada e Problemas mais comuns (causas e tratamentos)** / Ademir de Moraes Ferreira – Juiz de Fora, MG: Edição do Autor, 2010. pag. 422.

FONSECA & PINEDA. **Fisiologia da Reprodução**. Disponível em: <http://www.ufsm.br/embryolab/Fisiologia%20reproducao.pdf>. Acesso em: 14 nov. 2022.

GONÇALVES, P.B.D; FIGUEIREDO, J.R; FREITAS, V.J.F. **Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal**. 2a Ed. São Paulo- SP, Roca, p. 261-293, 2008.

GOTTSCHALL, C. S.; SILVA, L. R. Resposta reprodutiva de novilhas de corte aos dois e três anos de idade submetidas a diferentes protocolos para inseminação artificial em tempo fixo (IATF). **Veterinária em Foco**, v. 10, n. 1, jul./dez. 2012.

GRUNERT, E; GREGORY, R.M. **Diagnóstico e Terapêutica da Infertilidade na Vaca**. Porto Alegre. Sulina. 1984.

HAFEZ, B; HAFEZ, E.S.E. **Reprodução animal**. 7.ed. São Paulo: Manole. 2004.

KONIG, H.E.; LIEBICH, H.G. **Anatomia dos animais domésticos**. 6ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

LEIVAS, G.F.; BRUM DOS SANTOS, D.; MEZZALIRA, A.; PILLA CÁCERES, L. F.; BERNARDI, M.L; RUBIN BATISTELLA, M. I.; SILVA MONDINO, C.A. Transporte de oócitos bovinos em meio de maturação sem controle de atmosfera gasosa. **Ciência Rural**, vol. 34, núm. 1, janeiro - fevereiro, pp. 219 – 224, 2004.

MELHORAMENTO GENÉTICO. Embrapa. Disponível em: <https://www.embrapa.br/qualidade->

da-carne/carne-bovina/producao-de-carne-bovina/melhoramento-genetico. Acesso em 14 nov. 2022.

NICIURA, S. C. M. Anatomia e fisiologia da reprodução de fêmeas bovinas. Campinas: Instituto Agrônomo, 2008. (Série Tecnologia APTA. Boletim Técnico IAC, 51). p. 15-27.

RATHBONE, M.J.; KINDER, J.E.; FIKE, K. Recent advances in bovine reproductive endocrinology and physiology and their impact on drug delivery system design for the control of the estrous cycle in cattle. **Adv. Drug Deliv. Ver.**, v. 50, pag. 277-320, 2001.

RAWLINGS, N.C et al. **Antral follicle growth and endocrine changes in prepubertal cattle, sheep and goats**. Animal Reproduction Science, v. 78, p. 259-270, Savoy, 2003.

RENESTO, A. ASSOCIAÇÃO DAS BIOTÉCNICAS: ASPIRAÇÃO FOLICULAR GUIADA POR ULTRA-SONOGRAFIA E SUPEROVULAÇÃO NA PRODUÇÃO IN VITRO E IN VIVO DE EMBRIÕES BOVINOS. Dissertação - **Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP**. Jaboticabal. 2004.

RUSSE, I. **Oogenesis in cattle and sheep**. Bibliotheca Anatomica, v. 24, p. 77-92, BASEL, 1983.

SENGER, P.L. Pathways to pregnancy and parturition. 2. Ed. Pullman, USA: Current Conceptions, 2003. 368 p.

SOARES, P.H.A.; JUNQUEIRA, F.S. Particularidades reprodutivas da fêmea bovina: Revisão. **PUBVET**, v. 13, p. 148, 2018.

VANTAGENS DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO. Cpt Cursos Presenciais, 2021. Disponível em: <https://www.cptcursospresenciais.com.br/blog/iatf-em-bovinos/>. Acesso em 14 nov. 2022.

VARAGO 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, Belo Horizonte, 2008.