



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**A VIABILIDADE DE UTILIZAÇÃO DA BIOTÉCNICA DE MÚLTIPLA
OVULAÇÃO E TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES**

Divino Fábio de Moraes
Orientador: Prof. Dr. Ivo Pivato

BRASÍLIA - DF
OUTUBRO/2021



DIVINO FÁBIO DE MORAIS

A VIABILIDADE DE UTILIZAÇÃO DA BIOTÉCNICA DE MÚLTIPLA OVULAÇÃO E TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES

Trabalho de conclusão de curso de
graduação em Medicina Veterinária
apresentado junto à Faculdade de
Agronomia e Medicina Veterinária da
Universidade de Brasília

Orientador: Prof. Dr. Ivo Pivato

BRASÍLIA - DF
OUTUBRO/2021

DM827v DE MORAIS, DIVINO FÁBIO
A VIABILIDADE DE UTILIZAÇÃO DA BIOTÉCNICA DE MÚLTIPLA
OVULAÇÃO E TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES / DIVINO FÁBIO DE
MORAIS; orientador IVO PIVATO. -- Brasília, 2021.
44 p.

Monografia (Graduação - MEDICINA VETERINÁRIA) -
Universidade de Brasília, 2021.

1. REPRODUÇÃO ANIMAL. 2. BIOTECNOLOGIA. 3. MELHORAMENTO
GENÉTICO. 4. SOV. 5. TETF. I. PIVATO, IVO, orient. II.
Título.

Cessão de Direitos

Autor: Divino Fábio de Moraes

Título: A viabilidade de utilização da biotécnica de múltipla ovulação e transferência de embriões

Ano: 2021

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta monografia e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação e nenhuma parte desta monografia pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.

Divino Fábio de Moraes

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome do autor: DE MORAIS, Divino Fábio

Título: A viabilidade de utilização da biotécnica de múltipla ovulação e transferência de embriões

Trabalho de conclusão do curso de graduação em Medicina Veterinária apresentado junto à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília

Aprovado em: ___/___/___

Banca examinadora

Prof. Dr. Ivo Pivato

Instituição: Universidade de Brasília

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. Fábio Henrique Bezerra Ximenes

Instituição: Universidade de Brasília

Julgamento: _____

Assinatura: _____

MV. MSc. Tiago Mendonça de Souza

Instituição: Universidade de Brasília

Julgamento: _____

Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

A todos os animais que convivi na vida pessoal e acadêmica, especialmente aos meus cães Madruga (*in memoriam*) e Luna. Cada um ao seu modo contribuiu para despertar em mim a vocação de me tornar um médico veterinário.

AGRADECIMENTOS

À Deus e ao Divino Espírito Santo pela proteção e os dons da vida, sabedoria e discernimento.

Aos meus pais Jonas Morais e Marlene Santana pelo apoio incondicional em todos os momentos, sem vocês absolutamente nenhuma das minhas conquistas seriam possíveis.

Ao meu orientador e grande amigo Ivo Pivato que com seus exemplos de dedicação e paciência me inspiram a crescer cada dia mais como pessoa e profissional.

Aos amigos Guilherme Martins, Pedro Souza, Paulo Silva, Vitor Mangerotti, Bruno Oliveira e Tiago Souza pela amizade verdadeira e parceria nos momentos de alegria e também nas adversidades.

À madrinha de faculdade Ana Paula que sempre esteve por perto compartilhando das boas ocasiões e, principalmente, me estendendo a mão nas dificuldades.

As amigas Greice Santana, Ivana Vargas, Damara Valcan e Juliana Mendes pela generosidade, a paciência, os conselhos e por toda a convivência.

Ao meu irmão Vitor Morais, meus afilhados, primos, tios e todos os familiares que sempre torcem pelo meu sucesso.

A toda a equipe do curso de medicina veterinária da UnB, FAL, HVET e aos professores, especialmente ao Fábio Ximenes, Mário Falcão e Márcio Botelho por todos os ensinamentos e oportunidades.

À Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, ao orientador Dr. João Henrique Moreira Viana, os mestrandos e a todos os funcionários da Fazenda Experimental Sucupira pelos conhecimentos e experiências obtidos no estágio supervisionado.

À todas as pessoas e animais que contribuíram para que eu chegasse até aqui.

Nada, absolutamente nada do que acontece em nossas vidas poderia ter sido de outra forma. Mesmo o menor detalhe. O que aconteceu foi tudo o que poderia ter acontecido, e foi para aprendermos a lição e seguirmos em frente. Todas e cada uma das situações que acontecem em nossas vidas são perfeitas.

Autor desconhecido

SUMÁRIO

RESUMO.....	xii
ABSTRACT	xiii
1. PARTE I – Trabalho Científico	1
2. INTRODUÇÃO	1
3. REVISÃO DE LITERATURA	3
3.1. Seleção de doadoras, doadores e receptoras.....	3
3.2. Superovulação de doadoras e sincronização de receptoras de embriões	5
3.3. Coleta de embriões bovinos	7
3.4. Avaliação morfológica e inovulação de embriões.....	9
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	13
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	17
6. CONCLUSÕES	24
7. REFERÊNCIAS.....	25
8. PARTE II – Relatório de Estágio	30

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 – Esquema representativo do protocolo de superovulação e sincronização em fêmeas bovinas de corte para MOET	7
FIGURA 2 – Esquema representativo da lavagem uterina e coleta de embriões bovinos	8
FIGURA 3 – Desenvolvimento embrionário bovino	10
FIGURA 4 – Estágios de desenvolvimento de embriões produzidos <i>in vivo</i>	11
FIGURA 5 – Matrizes doadoras	14
FIGURA 6 – Lavagem uterina, classificação e inovulação de embriões.	16

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Embriões obtidos após lavado de diferentes doadoras	19
TABELA 2 – Produtos obtidos da MOET	22

LISTA DE ABREVIações

ABCZ – Associação Brasileira de Criadores de Zebuínos

AINEs – Anti-inflamatórios não esteroidais

CL – Corpo lúteo

DEPs – Diferenças esperadas na progênie

DPBS – Dulbecco Phosphate Buffered Saline

D0 – Dia 0

D4 – Dia 4

D5 – Dia 5

D6 – Dia 6

D7 – Dia 7

D8 – Dia 8

D9 – Dia 9

D10 – Dia 10

D15 – Dia 15

D17 – Dia 17

D31 – Dia 31

eCG – Gonadotrofina coriônica equina

FSH – Hormônio folículo estimulante

IATF – Inseminação artificial em tempo fixo

IETS – Sociedade Internacional de Transferência de Embriões

IM – Via intramuscular

LH – Hormônio luteinizante

MAPA – Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MOET – Múltipla ovulação e transferência de embrião

PGF_{2α} – Prostaglandina

PIVe – Produção *in vitro* de embriões

SBTE – Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões

SOV – Superovulação ovariana

TETF – Transferência de embriões em tempo fixo

µg – Micrograma

RESUMO

A múltipla ovulação e transferência de embrião – MOET é uma biotécnica reprodutiva que utiliza a genética melhoradora de animais superiores para disseminar e avançar na qualidade do rebanho. O objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade da utilização da técnica de MOET para a produção e transferência de embriões bovinos em uma pequena propriedade localizada no nordeste goiano dedicada a criação de bovinos da raça nelore. Após exames ginecológicos e clínicos selecionou-se quatro doadoras para superovulação (SOV) e 25 receptoras para a transferência de embriões em tempo fixo (TETF). Realizou-se por meio de protocolos definidos a superovulação ovariana e inseminação de doadoras, colheita, rastreamento e transferências dos embriões para matrizes receptoras. Obteve-se um total de 33 embriões gerados por três doadoras, dos quais 73% apresentaram boa qualidade e, portanto, transferíveis nas 23 receptoras aptas após seleção ginecológica e sincronização de estro. No D31 de gestação realizou-se avaliação ultrassonográfica transretal, atestando 33% de matrizes gestantes. Conclui-se que a MOET é uma biotécnica de exequibilidade mesmo em pequenas propriedades possibilitando maximizar o potencial do patrimônio genético animal da propriedade.

Palavras-chave: reprodução animal; biotecnologia; melhoramento genético; SOV; TETF.

ABSTRACT

Multiple ovulation and embryo transfer – MOET is a reproductive biotechnique that utilizes genetically superior donors to spread and advance the quality of the herd. The objective of this work was to evaluate the feasibility of using the MOET technique for the production and transfer of bovine embryos in a small property located in northeastern Goiás, dedicated to the creation of Nelore cattle. After gynecological and clinical examinations, four donors for superovulation (SOV) and 25 recipients for fixed-time embryo transfer (FTET) were selected. Defined protocols were performed for ovarian superovulation and insemination of donors and for estrous synchronization of recipient cows. A total of 33 embryos generated by three donors were obtained, of which 73% were of good quality and, therefore, transferable in the 23 suitable recipients after gynecological examination post-estrus synchronization. On D31 of pregnancy, a transrectal ultrasonographic evaluation was performed, confirming 33% of pregnant recipients. It is concluded that MOET is a feasible biotechnique even in small farms, making it possible to maximize the potential of the farm's animal genetic heritage.

Keywords: animal reproduction; biotechnology; genetic improvement; SOV; FTET.

1. PARTE I – TRABALHO CIENTÍFICO

2. INTRODUÇÃO

A bovinocultura de corte contribui consideravelmente para o produto interno bruto do Brasil, sendo que em 2020 essa atividade cresceu economicamente mais de 25% (CNA & CEPEA, 2021). É possível tornar ainda mais expressiva a participação da pecuária nesse cenário, por meio de biotécnicas avançadas da reprodução (TAROUCO et al., 2020). Dentre várias, cita-se a produção e transferência de embriões que permite disseminar e avançar na qualidade genética do rebanho (SCANAVEZ et al., 2013).

Trata-se de uma estratégia tecnológica utilizada há décadas e que apresenta um crescimento considerável nos últimos tempos. Em 2018 foram produzidos 364.802 embriões bovinos no Brasil por meio de técnicas *in vivo* e *in vitro* nos segmentos zebuínos e taurinos de corte e leite. A raça nelore tem a maior participação no zebuíno, representando 91% (VIANA, 2019).

As estatísticas divulgadas pela Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões (SBTE) no primeiro semestre de 2021 a respeito da produção de embriões no Brasil (dados de 2019), mostram que o país ocupa o 2º lugar no ranking mundial. A produção *in vitro* ocupa 93,8% desse cenário, a qual sofreu forte ascensão após os anos 2000 com a expansão comercial da biotecnologia, ao passo que 6,2% para a técnica *in vivo*, embora pareça um número pequeno que possa isoladamente sugerir um desuso da tecnologia, a série histórica aponta o oposto, haja vista a linearidade na última década (VIANA, 2021).

A transferência de embriões é uma biotécnica viável para o melhoramento genético de um rebanho, pois utiliza touros e vacas melhoradores proporcionando ganhos para produção nos setores de carne ou leite (BARUSELLI et al., 2019). Essa estratégia *in vivo*, denominada múltipla ovulação e transferência de embrião – MOET (NOGUEIRA et al., 2017) envolve a superovulação ovariana (SOV), inseminação de doadoras, colheita, rastreamento e transferências dos embriões para matrizes receptoras as quais tem como função a gestação dos mesmos (OLIVEIRA et al., 2014).

A transferência de embriões obtidos por MOET ou fertilização *in vitro* (PIVe) implica na utilização de touros e matrizes com potencial genético superior e permite um melhor aproveitamento da fêmea que naturalmente só gera um produto por ano seja por monta natural ou inseminação artificial. Nesse contexto, uma mesma matriz pode em um curto espaço de tempo produzir embriões advindos de acasalamentos diferentes, permitindo avaliações contemporâneas de bezerros de paternidades diferentes (GADDIS et al., 2017; NICACIO, 2021).

Os cruzamentos realizados são orientados pelo planejamento genético da propriedade onde os objetivos da produção direcionarão para a escolha ideal do touro e matrizes. Os sumários de avaliações auxiliam na escolha de animais que agregam valor nos mais diversos sistemas. Na formação de um plantel são desejadas características como habilidade materna, precocidade e longevidade produtiva. Já na produção comercial de animais para abate, ganho de peso, acabamento e área de olho de lombo são diferenças esperadas na progênie (DEPs) que necessitam de atenção (ANCP, 2021).

A MOET é uma tecnologia aplicável aos pequenos, médios e grandes criadores, porém é necessário que apresentem infraestrutura compatível para a execução da técnica garantindo a segurança do profissional e dos animais (SILVEIRA & PUGLIESI, 2021). Componentes como nutrição, manejo e sanidade, são essenciais para o sucesso da técnica (HONORATO et al., 2013).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade da utilização da técnica de MOET para a produção e transferência de embriões bovinos em uma pequena propriedade localizada no nordeste goiano dedicada a criação de bovinos da raça nelore.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Seleção de doadoras, doadores e receptoras

A produção e transferência de embriões envolve uma série de etapas. Para que o resultado final seja um embrião de qualidade é necessário atentar-se ao planejamento e execução de todos os processos. Nesse âmbito, a seleção criteriosa das matrizes doadoras, dos touros utilizados e das receptoras são imprescindíveis (STROUD & HASLER, 2006).

A doadora deve ter uma genética consistente e superior das demais matrizes do plantel, pois essa será transmitida aos seus descendentes. Assim, características raciais e conformações morfológicas são elementos obrigatórios na seleção (PENITENTE FILHO et al., 2013).

Com relação a saúde clínica-reprodutiva da doadora espera-se que apresente peso, tamanho, idade e ciclicidade compatíveis que permitirão responder ao processo de SOV. O animal deve ter higidez em todos os demais sistemas, bem como a ausência de defeitos genéticos, boa condição corporal e bem-estar animal (PRADO, 2005; PHILLIPS & JAHNKE, 2016).

Diferentemente da fertilização *in vitro* em que os embriões são produzidos em laboratório, na SOV a embriogênese é realizada no trato reprodutivo da doadora, portanto, é inadmissível a presença de defeitos e/ou enfermidades. Alterações como colo uterino tortuoso, que dificulta ou impossibilita a inseminação artificial e a coleta de embriões, aderências, mucometra e infecções poderão impedir a ovulação e fecundação (OLIVEIRA et al., 2014).

O ingresso de uma doadora no programa MOET só deve ocorrer após um período mínimo de 2 meses pós-parto e presença de atividade cíclica. O intervalo entre uma SOV e outra não deve ser inferior a 40 dias. A realização de exames ginecológicos com ultrassom é de suma importância para traçar o histórico reprodutivo, a identificação de patologias e como critério de seleção de matrizes com maior crescimento folicular (HONORATO et al., 2013).

O touro utilizado no acasalamento deve ser detentor de uma genética melhoradora e direcionada aos objetivos do criador, não pode ser um veiculador de enfermidades, portanto, o sêmen deve ser adquirido de centrais de genética, que seguem os critérios sanitários e de qualidade definidos pelo Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (ROLIM, 2014).

Na SOV se comparada a uma ovulação natural, a fertilização dos ovócitos costuma ser mais baixa, logo o sêmen utilizado precisa apresentar boa qualidade (BARUSELLI et al., 2007). Segundo Arruda et al., (2015), o Grupo de Trabalho de Andrologia Bovina do MAPA institui que o sêmen bovino dos Centros de Coleta e Processamento de Sêmen deve apresentar pelo menos 70% de espermatozoides normais, máximo de 20% de defeitos maiores e 30% para defeitos menores, motilidade progressiva superior a 30%, vigor acima de 3.

As receptoras dos embriões podem representar o fracasso ou sucesso da tecnologia. Requerem um investimento alto para serem produzidas ou adquiridas e demandam custos expressivos de manutenção. Além disso são as responsáveis por estabelecer, levar a gestação a termo e criar os produtos de mérito genético superior (FERNANDES, 1999; NASSER et al., 2004).

O recomendado é que as receptoras sejam oriundas da própria propriedade, esta deve atender adequadamente as condições de sanidade de seu rebanho. Tal medida evita a introdução de enfermidades, resistência a antimicrobianos e antiparasitários com o ingresso de animais. Caso haja aquisição externa precisam passar por quarentena e realização de exames para evitar a contaminação do rebanho e do feto a doenças infecciosas (LAGE, 2000; GIVENS & MARLEY, 2008).

Além da sanidade sistêmica a receptora deve ter saúde reprodutiva avaliada por exame ultrassonográfico, ausência de anormalidades, ciclicidade, habilidade materna, temperamento calmo, boa produção de leite, facilidade de parto, nutrição adequada com bom escore de condição corporal (SELK, 2010; KARA et al., 2020).

Diante ao exposto o uso de novilhas para essa finalidade deve ser muito bem avaliado, pois embora a taxa de prenhez geralmente seja superior à das vacas, os produtos gestados podem ser incompatíveis ao seu tamanho, resultando em partos distócicos. Outras questões incluem a impossibilidade da deposição do

embrião no útero devido a cérvix pouco desenvolvida em nulíparas muito jovens, qualidade inferior de colostro e menor produção de leite se comparadas as vacas (ALVAREZ, 2008; HASLER, 2014; PHILLIPS & JAHNKE, 2016).

3.2. Superovulação de doadoras e sincronização de receptoras de embriões

A vaca é poliéstrica anual, seu ciclo estral é dividido em duas fases, a luteínica referente ao período de plena atividade do corpo lúteo (CL) com duração de 16 a 17 dias e a fase folicular de 3 a 6 dias, onde ocorre a regressão do CL e ovulação predominantemente de apenas 1 ovócito, uma vez tratar-se de uma espécie monovulatória (HAFEZ & HAFEZ, 2004).

O desenvolvimento folicular final ocorre geralmente em duas ou três ondas (BARUSELI et al., 2007). Sob ação do hormônio folículo estimulante (FSH) inicia-se a emergência folicular com o recrutamento de um grupo de folículos, a seguir, ocorre a seleção, onde apenas um folículo emergirá, torna-se dominante (produz altas concentrações de estrógenos (17 β estradiol) e inibina), provocando a atresia folicular dos demais recrutados. A ovulação acontece quando há queda na concentração de progesterona e pico do hormônio luteinizante (LH) (FERRAZ, 2007; GREGORY et al., 2009). Na SOV administra-se fármacos que impedem a dominância folicular, isso permite o crescimento e ovulação de vários folículos com a liberação de múltiplos ovócitos que serão fecundados para gerar o máximo de embriões em um único ciclo estral (OLIVEIRA et al, 2014; BÓ, 2020).

A fisiologia reprodutiva das fêmeas bovinas demonstra diversas particularidades, as *bos indicus* costumam apresentar o estro de menor duração que as *bos taurus*, comumente manifestado a noite e há maior recrutamento folicular em cada onda (BARUSELLI et al., 2011).

Por meio do tratamento com fármacos exógenos é possível sincronizar a emergência folicular e agendar o período ideal para a SOV independentemente do momento do ciclo estral, dispensando também a observação de estro para a inseminação (NASSER et al., 2004; PHILLIPS & JAHNKE, 2016).

O protocolo para iniciar a nova onda de desenvolvimento folicular consiste no dia 0 na colocação de dispositivo intravaginal liberador de progesterona

e administração de 2 mg benzoato de estradiol o que inibe a liberação de FSH promovendo a atresia folicular. Após a metabolização do estradiol (em torno do dia 4), o feedback é parcial e permite a liberação de FSH e conseqüentemente a emergência de uma nova onda de crescimento folicular, nesse momento inicia-se a administração exógena de FSH, (BÓ, 2020).

O tratamento com FSH perdura do dia 4 ao dia 7 com aplicações diárias decrescentes a cada 12 horas (total de 8 doses). Assim evita-se o fenômeno da dominância, permitindo o crescimento e a ovulação de vários folículos (OLIVEIRA et al., 2014).

Também no dia 6 do tratamento, é administrado prostaglandina, 0,530mg ($PGF_{2\alpha}$) responsável pela luteólise caso haja algum CL. O implante de progesterona é retirado no dia 7 do protocolo. No dia 8 a doadora deve estar em estro e será inseminada na tarde do mesmo dia e na manhã do dia 9, e a coleta dos embriões realizada no dia 15 (BÓ, 2020).

Nas receptoras o emprego da técnica de transferência de embriões em tempo fixo (TETF) é uma estratégia viável, com taxas de prenhez satisfatórias. Trata-se de uma ferramenta que permite a sincronização da ovulação por meio da terapia hormonal, dispensando a observação de estro (NOGUEIRA et al., 2017).

A sincronização é realizada de forma semelhante à das doadoras, não sendo utilizado tratamento FSH ou inseminação. No dia 0 aplica-se 2 mg de benzoato de estradiol e implante intravaginal a base de progesterona, no dia 8 para a indução da ovulação remove-se o implante de progesterona, administra-se 1 mg de cipionato de estradiol, 0,530mg de $PGF_{2\alpha}$ e como promotor de maturação folicular 300 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG), no dia 10 as matrizes estão em estro e no dia 17 é realizada a inovulação dos embriões (BOSOLASCO et al., 2021).

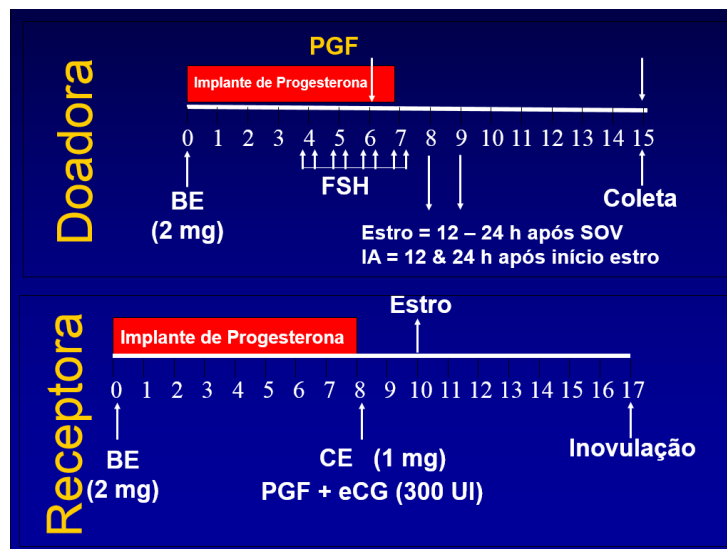


FIGURA 1 – Esquema representativo do protocolo de superovulação e sincronização em fêmeas bovinas de corte para MOET. Fonte: Pivato (2020).

3.3. Coleta de embriões bovinos

Após seis a oito dias da primeira inseminação artificial é realizada a coleta dos embriões (PHILLIPS & JAHNKE, 2016). A forma não cirúrgica tem sido de eleição e consiste na lavagem do útero via sonda intrauterina. Nesse período os embriões encontram-se no estágio de mórula ou blastocisto, no lúmen da ponta dos cornos uterinos (MACHATY et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2014).

As doadoras são colocadas em troncos de contenção individual e avaliadas por meio de exame ultrassonográfico ou palpação retal para a identificação e quantificação dos corpos lúteos. Uma vez avaliada a resposta a SOV higieniza-se a região perineal e aplica-se anestesia via epidural com administração de 3 a 5 ml de cloridrato de lidocaína a 2%. A assepsia na coleta é fundamental para o sucesso da técnica, pois contaminações dos materiais comprometem a qualidade embrionária (RICHARD et al., 2015).

Com a introdução de um expansor de cérvix é realizada a dilatação do canal do colo do útero, neste momento bem fechado, pois a matriz se encontra na fase progesterônica. A seguir o expansor é retirado sendo introduzido via transcervical uma sonda flexível (Foley) com balão montada num mandril metálico

rígido. Quando a sonda tiver passado o colo uterino, o balão é inflado fixando-a no corpo do útero ou no corno uterino e o mandril é removido (RICHARD, et al., 2015).

Após a fixação da sonda, a coleta pode ser executada no sistema aberto onde se acopla a seringa a sonda, injetando e aspirando líquido ou fechada e mais usada, na qual se acopla um equipo em Y ao sistema e por gravidade ocorre a entrada de meio no útero. Uma das extremidades do equipo é acoplada a embalagem contendo o meio de coleta e a outra ao filtro coletor. Com o auxílio de travas controla-se o fluxo de entrada e saída do fluido para o útero lavando os dois cornos simultâneos ou para cada corno individualmente. O sistema cria pressão negativa que juntamente com a execução de massagem uterina via retal permite a liberação do conteúdo para o filtro coletor (SELK, 2010; OLIVEIRA et al., 2014).

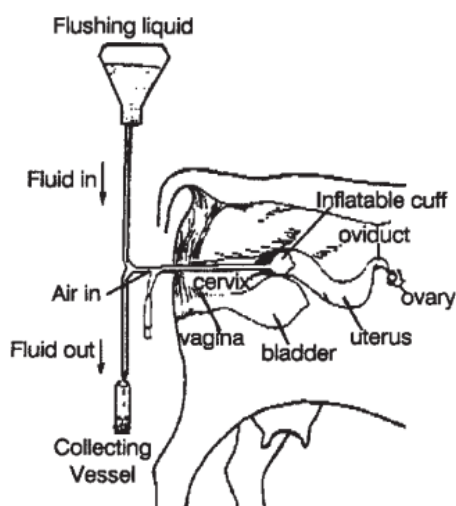


FIGURA 2 – Esquema representativo da lavagem uterina e coleta de embriões bovinos. Fonte: Selk (2010).

A solução empregada na lavagem uterina deve garantir a integridade e qualidade do embrião, portanto, deve apresentar osmolaridade e pH fisiológico, sendo a mais utilizada a Dulbecco Phosphate Buffered Saline (DPBS). São realizadas várias lavagens no útero da doadora, o volume injetado depende da capacidade do útero, variando de 50 a 200 ml. O total utilizado é de 500 a 1000 ml. Após ejeção o fluido passa pelo filtro de 40 a 70 μm retendo os embriões que apresentam tamanho de 150 a 200 μm (PHILLIPS & JAHNKE, 2016).

Castro Neto et al. (2005) desenvolveram a técnica de recoleta dos embriões. Resumidamente, após finalizada a coleta, o útero é preenchido de meio com a sonda *in loco* sendo obstruída sua saída para evitar extravasamento do meio.

O equipo Y é removido e a doadora é liberada retornando cerca de 30 minutos após, para uma nova coleta (recoleta). O equipo é reconectado, o conteúdo do útero é drenado para o filtro e são realizados mais 2 ou 3 lavados. Com esse procedimento é possível obter até 30% a mais de estruturas, pois durante o período entre as coletas, há distensão uniforme da parede do útero, o que leva a redução da pressão e potencializa o fluxo na recoleta. Findada esta etapa administra-se PGF2 α para evitar a possibilidade de gestação múltipla, caso tenham permanecido embriões remanescentes.

3.4. Avaliação morfológica e inovulação de embriões

Após a coleta é realizada a lavagem do filtro coletor com DPBS, esse procedimento libera embriões que eventualmente estejam aprisionados na parede ou em muco. A seguir o líquido é colocado em placa de petri com fundo riscado para facilitar a procura. Com o auxílio de lupa estéreo-microscópica identifica-se as estruturas presentes na placa que são transferidas para outra placa com meio de manutenção, onde são classificadas. Após são lavadas diversas vezes em gotas contendo o meio de manutenção para evitar contaminações e remover células da doadora que porventura ficaram aderidas aos embriões, posteriormente recebem o devido destino (PRADO, 2005, OLIVEIRA, 2014).

Durante a pré-implantação os embriões bovinos apresentam diversos estágios de desenvolvimento, entre 0 a 2 dias pós cio, apresentam 1 célula, do 5^o ao 7^o são mórulas, do 7^o ao 9^o, blastocistos, sendo essas duas formas as principais encontradas e transferíveis. A presença de anomalias morfológicas é critério de seleção dos embriões, defeitos como fragmentos celulares, blastômeros variáveis, dentre outros ancoram o descarte destes (HAFEZ & HAFEZ, 2004).

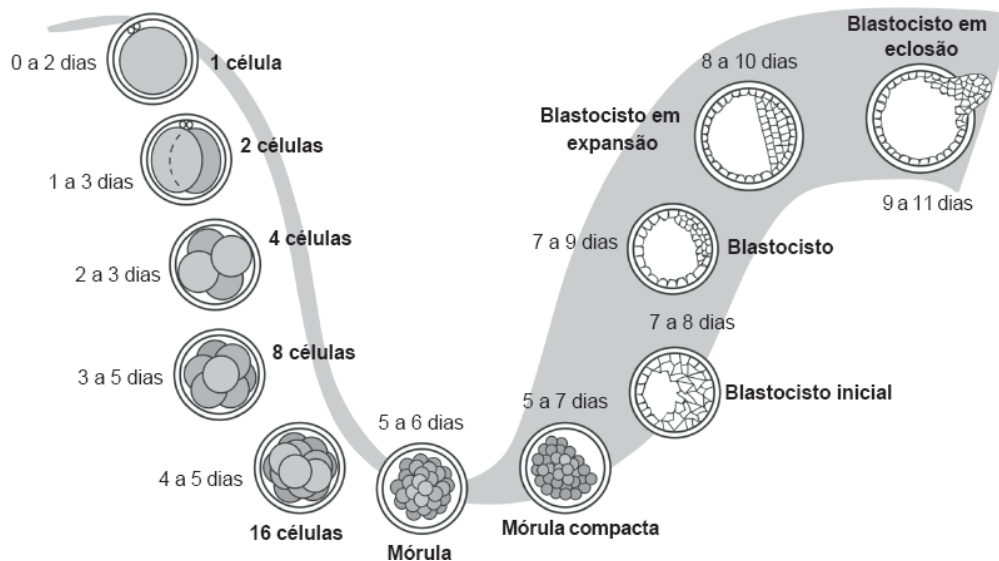


FIGURA 3 – Desenvolvimento embrionário bovino. Fonte: PRESTES & LANDIM-ALVARENGA, 2017.

A Sociedade Internacional de Transferência de Embriões (IETS) classifica os embriões quanto ao estágio de desenvolvimento e qualidade em códigos: 1 é excelente ou bom, apresenta-se compatível ao desenvolvimento nesse estágio, o 2 é considerado regular, há algum grau de comprometimento, mas ainda passível de desenvolvimento, o 3 é pobre, nota-se muitas anormalidades morfológicas e desenvolvimento precário, por fim, o 4 em que há morte ou degeneração, com inúmeras alterações incompatíveis com o desenvolvimento embrionário (STRINGFELLOW & SEIDEL, 1998; VIANA, 2009).

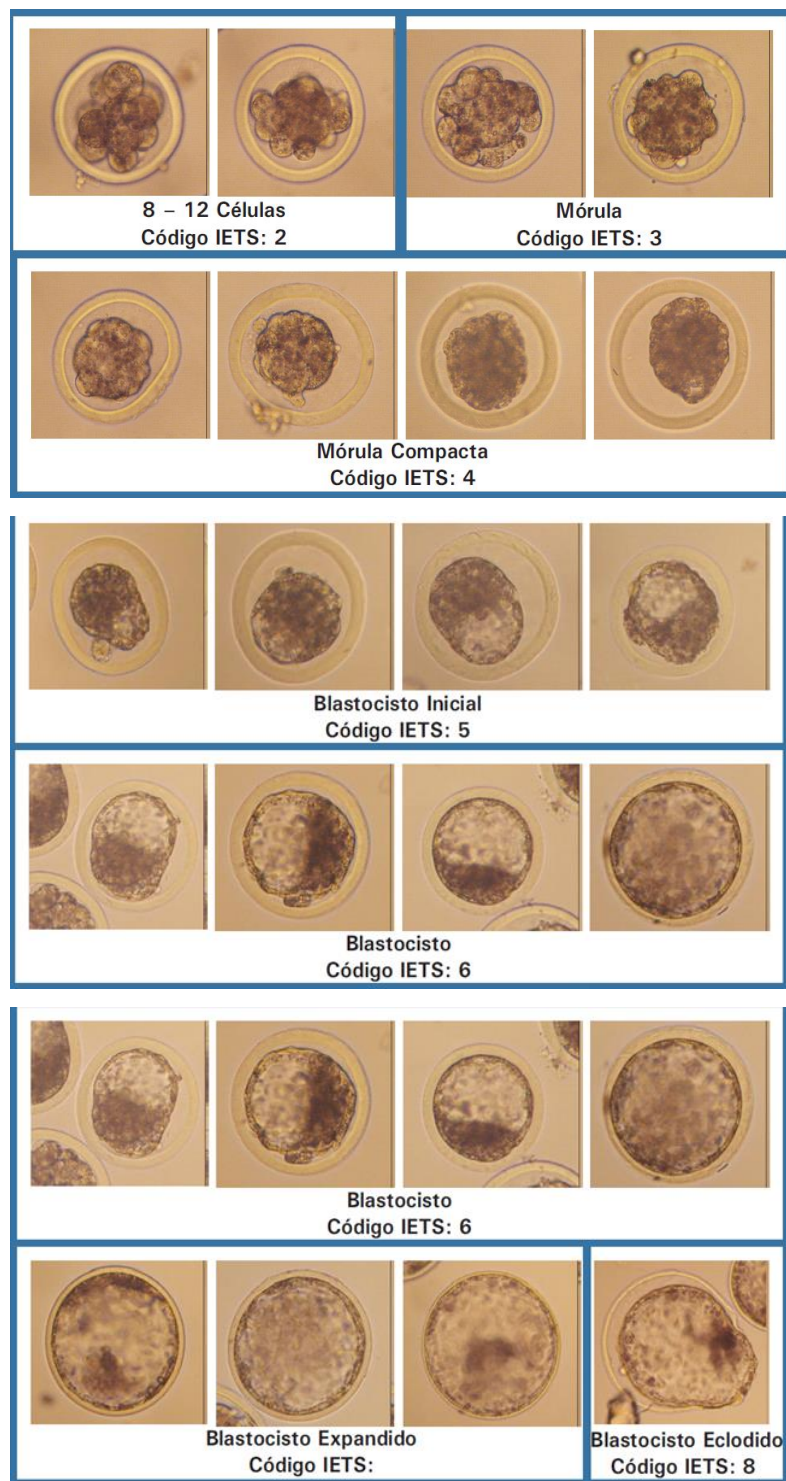


FIGURA 4 – Estágios de desenvolvimento de embriões produzidos *in vivo*. Fonte: VIANA, 2009.

Uma vez avaliados morfológicamente, os embriões são envasados em palhetas de 0,25 ml para a etapa seguinte do processo, a inovulação. Esta nada mais é que a deposição do embrião no corno uterino da receptora que pode ser pelo método cirúrgico ou transcervical (BEATTY, 1951).

O procedimento cirúrgico empregava o acesso pela linha média nos anos iniciais da técnica. Foi substituído por laparotomia na região do flanco, o que deu mais agilidade e acessibilidade, pois dispensa o uso de centros cirúrgicos. Após exteriorização do útero há a deposição do embrião no corno ipsilateral ao ovário com CL com o auxílio de um cateter. Essa técnica gerou resultados satisfatórios de prenhez, porém evidentes traumas no trato reprodutivo devido a exteriorização uterina, restrições de instalações e com o avanço de materiais para a inovulação transcervical, ocasionaram no seu desuso (HASLER, 2014).

A inovulação via transcervical consiste na passagem do inovulador pela vagina, colo do útero, corpo do útero e deposição do embrião o mais próximo da junção útero-tubárica, do corno uterino ipsilateral ao ovário com CL. Este processo requer habilidade, assepsia e delicadeza, pois a manipulação uterina libera mediadores inflamatórios responsáveis por luteólise, fato que justifica o uso de anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) para incrementos de até 15% nos resultados de prenhez (BESBACI et al., 2021).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Fazenda Sertanejo (Latitude: 14°21'71.1"; Longitude 47°20'44.1") no município de São João da Aliança – GO, portal da chapada dos veadeiros. A propriedade conta com área de 200ha, sendo que 83ha é destinado a pastagem, composta por *brachiaria* e *andropogon* e 117ha direcionada ao sistema de integração lavoura-pecuária, onde há o cultivo de grãos (milho, soja e feijão) na estação chuvosa e a palhada serve de alimento para os bovinos na época da seca.

O rebanho é composto 75 matrizes com grau de sangue zebuino, 9% gir e 91% nelore das quais 70% são registradas como Puras por Avaliação pela Associação Brasileira de Criadores de Zebuínos (ABCZ). O melhoramento genético do rebanho vem sido construído há anos utilizando touros Puros de Origem atestados pela ABCZ e com a reprodução somente das melhores matrizes valorizando a premissa de habilidade materna, ganho de peso, docilidade e stayability.

A partir de 2018 incorporou-se a biotécnica inseminação artificial em tempo fixo (IATF) a qual permitiu conhecimento mais consistente dos índices reprodutivos do plantel. Na busca pelo avanço genético mais rápido optou-se pela utilização da MOET na estação reprodutiva de 2020, utilizando doadoras do próprio rebanho pela valorização de características selecionadas ao longo dos anos.

Todas as matrizes foram submetidas a exame clínico geral, não foram identificadas alterações nos sistemas locomotor, digestivo, urinário, circulatório (mamário) e trato genital, bem como ausência de defeitos hereditários.

Foram selecionadas quatro doadoras: Araponga de Morais (EA6846), Canjerana de Morais (EA6845), Lagoa de Morais (OK2164) e Sagrada de Morais (EA 6830), pluríparas, solteiras, ECC 3 a 3,5, com idade de 9 a 12 anos. Ao exame ginecológico observou-se atividade cíclica e aptidão uterina para gestação. Com relação as receptoras houve heterogeneidade no lote, composto por 25 matrizes das quais: 2 nulíparas, 6 primíparas, 5 pluríparas e 12 solteiras, ECC 2,5 a 3, todas foram avaliadas também utilizando ultrassom, consideradas aptas a ingressarem no programa.



FIGURA 5 – Matrizes doadoras. Fonte: Arquivo pessoal.

Todos os animais receberam brinco mosquicida (Neocidol[®]), vacinas contra raiva (Raivacel[®]), febre aftosa (Bovicel[®]), clostridioses (Bovilis Poli Star[®]) e vermífugo (Attack gold[®]) 30 dias antes do início do procedimento da MOET. Além de acesso irrestrito a água limpa, suplementação mineral *ad libitum*, manejo racional e bem-estar.

As 25 receptoras ingressaram no programa de TETF no dia 25/11/2020 às 10 horas, foram contidas em tronco de contenção individual, receberam 2 mg de benzoato de estradiol (Ric-be[®]) via intramuscular (IM) com seringa de 3ml e agulha 40x12 e implante intravaginal a base de progesterona (CIDR[®]), desinfetado com CB-30 TA[®] e introduzido com aplicador próprio. No D8, às 10 horas, também no brete, foi retirado o implante intravaginal, administrado 300 UI de eCG (Ecegon[®]) IM, 0,530mg de D-cloprostenol, análogo a PGF₂ α (Estron[®]) IM, em seringas de 3 ml e agulhas 40x12, por fim 1 mg de cipionato de estradiol (Cipiotec[®]) IM, com seringa de 1ml e agulha 40x12. No D10, não foi observado percentuais de matrizes em estro.

No D17, após exame ginecológico atestando a presença de CL realizou-se a anestesia epidural com a administração de 40mg a base cloridrato de lidocaína

2% sem vasoconstritor (Lidovet[®]) utilizando seringa de 3ml e agulha 40x8, a seguir a assepsia da vulva e região perineal e inovulação dos embriões no corno uterino ipsilateral ao ovário com CL. O embrião foi envasado no centro da palheta, colocado em bainha e inovulador, utilizou-se camisa sanitária para evitar contaminações no ambiente uterino.

As doadoras receberam no D0, 27/11/2020, 2 mg de benzoato de estradiol (Ric-be[®]) via intramuscular (IM) com seringa de 3ml e agulha 40x12 e implante intravaginal a base de progesterona (CIDR[®]) desinfetado com CB-30 TA[®] e introduzido com aplicador específico. O tratamento com FSH (Pluset[®]) iniciou-se no D4, com administração BID IM 66UI, utilizando seringa de 5 ml e agulha 40x8, no D5, 50UI BID IM com seringa de 3ml e agulha 40x8, D6, 33UI BID IM com seringa de 3ml e agulha 40x8 e 0,530mg de D-cloprostenol (Estron[®]) em seringas de 3 ml e agulhas 40x12 e no D7 pela manhã retirada do CIDR e aplicação de 16 UI BID IM, seringa de 1ml e agulha 40x8.

No D8, pela manhã as matrizes Lagoa de Morais e Sagrada de Morais não apresentavam sinais de estro, foi administrado 21µg de buserelina acetato (Gonaxal[®]) IM, seringa de 5ml e agulha 40x12. A tarde, Lagoa de Morais permanecia sem sinais de estro, ao passo que Sagrada de Morais aceitava monta. Todas as doadoras foram inseminadas na tarde no D8 e manhã do D9. Foram utilizadas oito doses de sêmen de quatro touros da raça nelore da central Alta Genetics, cada matriz foi inseminada duas vezes com o mesmo touro, as doses de cada touro foram provenientes de uma mesma partida. O sêmen estava acondicionado em botijão criogênico e no momento da IA foi retirado e descongelado a 37°C por 30 segundos utilizando descongelador automático (WTA[®]), a seguir, a palheta foi secada com papel toalha, cortada, envasada na bainha e aplicador e realizou-se a inseminação com a deposição do sêmen no início do corpo do útero.

No D15 as doadoras retornaram para avaliação ginecológica com ultrassom para a verificação e quantificação dos CLs, posteriormente foi realizado o esvaziamento do reto, a anestesia epidural com a administração de 40mg a base cloridrato de lidocaína 2% sem vasoconstritor (Lidovet[®]) utilizando seringa de 3ml e agulha 40x8, a assepsia da vulva e região perineal com sabão neutro.

Introduziu-se um expansor cervical, em seguida com o auxílio de um mandril, a sonda foley N° 18, o balão foi inflado com 6-7 ml de ar quando esta encontrava-se no corpo do útero. O mandril foi retirado e a sonda permaneceu posicionada no início do corpo do útero. Utilizou-se um sistema fechado, para isso acoplou-se a sonda um equipo em Y, numa extremidade, 1 litro de soro ringer com lactato e na outra o filtro coletor, a lavagem uterina foi realizada diversas vezes. Ao término, o útero foi repleto de ringer lactato, foi desacoplado o sistema de coleta e obstruída a saída da sonda com presilha, e a doadora foi liberada. Após 30 minutos a doadora retornou para realização da recoleta. Ao final do procedimento administrou-se 0,530mg de D-cloprostenol (Estron®) em seringas de 3 ml e agulhas 40x12.

O filtro foi lavado com atenção para as paredes e fundo com jatos de soro ringer com lactato e o conteúdo foi vertido em placas de petri 100x20mm riscadas ao fundo para facilitar a procura dos embriões com o auxílio de lupa estéreo-microscópica, uma vez identificadas as estruturas foram transferidas para outra placa de petri 35x10 mm com meio de manutenção (Holding®). Após os embriões foram classificados de acordo com os critérios da IETS. A seguir lavados em 10 gotas de meio de cultivo, identificados e envasados no centro da palheta de 0,25 ml e inovulados nas receptoras, conforme descrito anteriormente.



FIGURA 6 – Lavagem uterina, classificação e inovulação de embriões. Fonte: Arquivo pessoal.

Após 24 dias da inovulação, ou seja, 31 dias de idade do embrião, foi realizado o exame ultrassonográfico para diagnóstico de gestação, as matrizes não gestantes foram imediatamente inseridas em um programa de IATF, as gestantes aguardaram para a reconfirmação aos 45 e 60 dias.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A técnica da MOET além de impactar positivamente no avanço genético de um plantel agrega em benefícios relacionados a taxa de prenhez, pois a fertilização e o desenvolvimento inicial do embrião (até os sete dias de gestação) ocorrem na doadora, logo se reduz efeitos deletérios uterinos das receptoras nessa fase embrionária inicial, ademais matrizes repetidoras de cio podem ser beneficiadas recebendo o embrião (BARUSSELI et al., 2011; NOGUEIRA et al., 2017).

O número de embriões produzidos pela SOV é variável, o que impede um planejamento fidedigno da quantidade de receptoras que devem ser sincronizadas. Espera-se que atendam a demanda, evitando o descarte de embriões frescos viáveis e que também haja embriões suficientes para que as receptoras não fiquem ociosas. Estima-se 10 receptoras para cada doadora, considerando que 40% destas não responderão satisfatoriamente ao protocolo de TETF (BARIONI et al., 2007).

No presente estudo utilizou-se 25 receptoras, esse número representava à época os animais em situação reprodutiva adequada a ingressarem no programa de TETF. Ao exame ginecológico no D17 diagnosticou-se a presença de CL em 92% das matrizes, apenas duas matrizes foram descartadas, sendo uma primípara e uma plurípara que no D8 foi picada por inseto, evidenciando sinais clínicos de edema de úbere e claudicação.

Identificou-se a presença de corpo lúteo no ovário direito em 56% das receptoras e 44% no ovário esquerdo. As ovulações nas fêmeas bovinas ocorrem majoritariamente no ovário direito, representando 60% delas (HAFEZ & HAFEZ, 2004). Por consequência, as gestações estabelecem predominantemente no corno uterino direito, pois os embriões bovinos não realizam a migração transuterina como é comum noutras espécies de animais domésticos como equinos e suínos, e mesmo em fêmeas ruminantes como na cabra e na ovelha (BORGES et al., 2017).

De modo geral 20-30% das doadoras não respondem satisfatoriamente ao tratamento de SOV. O resultado considerado satisfatório seria a coleta de seis embriões de boa qualidade por matriz, no entanto, somente 1/3 das vacas expostas apresentam esse resultado. Geralmente uma doadora produz em média quatro a

cinco embriões transferíveis por coleta. Isso decorre de questões embrionárias, ambientais, maternas, fisiológicas, hormonais, bem como a interação desses fatores (ALVAREZ, 2009; NOGUEIRA et al., 2013).

Corroborando com o exposto as doadoras responderam de modo diferente a SOV. Todas foram expostas a exames ultrassonográficos previamente a coleta de embriões. A matriz Lagoa de Morais apresentou apenas dois CLs no ovário direito, optou-se por não realizar a coleta nem administrar D-cloprostenol. A não resposta a SOV pode ter sido consequência de dose insuficiente de FSH ou tratar-se de um caso da síndrome da má respondedora ao tratamento de SOV. Após 30 dias realizou-se novo exame ultrassonográfico, atestou-se o diagnóstico negativo de gestação, a mesma foi inserida em um programa de IATF. Diferentemente do ocorrido na SOV, apresentou sinais de estro, foi inseminada com outro touro, houve fecundação e a gestação veio a termo.

No que se refere a influência paterna para o estabelecimento da prenhez, Reese et al. (2020) verificaram que muitos touros necessitam fortemente da ocorrência do estro da vaca para a fecundação, outros touros até emprenham bem mesmo sem a presença do estro, porém nesses casos verifica-se maiores taxas de perdas embrionárias em relação as matrizes que manifestam cio, provavelmente pelo ambiente uterino não estar propício ao desenvolvimento da gestação.

A doadora Canjerana de Morais apresentou três CLs no ovário direito e três no ovário esquerdo, confirmou-se após a coleta o total de seis embriões, quatro foram obtidos na coleta e dois na recoleta, sendo um blastocisto código 6, um blastocisto inicial código 5, uma mórula compacta código 4 e três degenerados código 1. Em suma, três embriões viáveis. O procedimento da coleta na matriz foi laborioso, a hipótese levantada foi a entrada de ar no útero via sonda, o que dificulta o lavado.

A doadora Sagrada de Morais apresentou cinco CLs no ovário direito e 3 no esquerdo, obteve-se após a coleta um total de 10 embriões, dos quais apenas um foi obtido na coleta e nove na recoleta, desses: oito mórulas compactas código 4, um blastocisto inicial código 5 e um degenerado código 1, ou seja, nove embriões viáveis. Mostrou-se uma doadora formidável, a coleta proporcionou um rendimento ideal atestando a dose assertiva do protocolo.

A doadora Araponga de Moraes apresentou uma resposta exacerbada, indicando a necessidade da redução na dose de FSH numa próxima SOV. Isso se faz importante, pois a presença de muitos CLs induz a produção elevada de progesterona, além de haver dificuldade de as fímbrias do infundíbulo envolverem o ovário durante a ovulação. No ovário direito havia mais de dez CLs, no esquerdo 9, obteve-se 17 embriões, na coleta 8 embriões e 9 na recoleta, sendo doze viáveis: dez blastocistos expandidos código 7, duas mórulas compactas código 4, quatro degenerados código 1 e um não-fecundado. As duas mórulas foram mantidas no meio de cultivo por seis horas, ao final desse período apresentaram evidente desenvolvimento embrionário.

Doadora	Estruturas na coleta	Estruturas na recoleta	Estruturas Totais	Embriões viáveis
Araponga	8	9	17	12
Canjerana	4	2	6	3
Lagoa	-	-	-	-
Sagrada	1	9	10	9
Total	13	20	33	24

TABELA 1 – Embriões obtidos após lavado de diferentes doadoras.

Sistematizando os achados obteve-se um total de 33 embriões gerados por três doadoras, dos quais 24 apresentaram boa qualidade, ou seja, 73%. Observou-se 56% dos embriões em estágio de desenvolvimento inicial (mórula compacta e blastocisto inicial) e 46% em estágio avançado (blastocisto expandido).

Corroborando com Castro Neto et al. (2005) a recoleta é uma estratégia relevante para colheita de embriões. Conforme demonstrado na tabela 1, obteve-se 20 estruturas, ou seja, 60% do total coletado, essa conduta propicia melhor aproveitamento do lavado uterino devido a coleta adicional de embriões, principalmente quando a equipe ainda está em treinamento quanto a execução da técnica.

Geralmente observa-se após a coleta maior presença de embriões em estágios avançados de desenvolvimento nas matrizes zebuínas e iniciais em taurinas, isso ocorre devido a particularidades endócrinas entre fêmeas *bos indicus* e *bos taurus*, principalmente relacionada as questões endócrinas, maturação

sexual, período gestacional, sazonalidade reprodutiva, dentre outras (FONSECA et al., 2001).

Haviam 23 receptoras disponíveis, logo um embrião excedente, devido a impossibilidade de criopreservação do mesmo, optou-se por inovular as duas mórulas obtidas da matriz Araponga de Moraes em uma única receptora, essa foi selecionada considerando apresentar habilidade materna apropriada e porte compatível para uma possível gestação gemelar.

Após 25 dias da inovulação, ou seja, D31 de gestação realizou-se avaliação ultrassonográfica transretal. Diagnosticou-se 33% de matrizes gestantes, das quais: 28,5% vacas solteiras, 28,5% pluríparas e 43% primíparas. As não-gestantes ingressaram noutras estratégias reprodutivas onde obteve-se 70% de prenhez por IATF, 18% de gestação por monta natural e 12% permaneceram não-gestantes após todas as alternativas.

O percentual de vacas paridas gestantes foi demasiadamente superior ao de solteiras, corroborando com NOGUEIRA et al. (2017) em que apontam 40% de prenhez nessa categoria desde que atendidas as exigências nutricionais e sanitárias.

As taxas de concepção são influenciadas por diversos fatores, dentre eles: nutricionais, sanitários, fisiológicos, de manejo, qualidade dos embriões e sua capacidade na liberação de interferon tau, responsável pelo reconhecimento materno da gestação e pela inibição da secreção de PFG-2 α (PIERONI, 2009; HASLER, 2014; PHILLIPS & JAHNKE, 2016).

A esse respeito cita-se ainda como fator relevante a experiência profissional para a execução da técnica. Os menos habilidosos como ocorreu no presente trabalho provavelmente manipulam mais o útero para a deposição do embrião. Em consequência, lesões diminutas na parede uterina podem sinalizar mediadores inflamatórios e há a liberação exacerbada de PFG-2 α , causando ambiente tóxico ao embrião e luteólise, impedindo a gestação (PIERONI, 2009).

Por se tratar da primeira MOET realizada na propriedade não foi possível realizar análises com resultados anteriores. O pequeno tamanho da amostra inviabiliza significância estatística, mas observa-se na literatura resultados referentes a taxa de prenhez próximos aos descritos por Dantas et al. (2018) de

34,12% e de Pieroni (2009) de 36,09%, todos inferiores aos 40-50% propostos por Bó et al. (2004).

Aos 45 dias de gestação realizou-se novo exame ginecológico, constatou-se 8% de perda gestacional. Em recente meta-análise Reese et al. (2020) apontaram taxas de perdas embrionárias em diferentes períodos gestacionais, 28,4% até 7 dias, 19,5% do dia 8 ao 32, o que resulta em torno de 50% de prenhez no momento do diagnóstico de gestação por exame ultrassonográfico e 5,8% entre 60 e 100 dias de gestação.

Outro fator que está intrinsecamente relacionado a manutenção da gestação é a genética paterna, pois exerce forte influência no alongamento do embrião e formação da placenta. Não existe correlação entre a fertilidade do touro e potencial para morte embrionária precoce (até 30 dias) ou tardia (31 a 100 dias). Nesses períodos ocorrem atividades importantes, e os touros apresentam perfis distintos para as mortes embrionárias. Entre os dias 24 e 31 há o alongamento do embrião e início da formação da placenta, após os 31 já se observa o crescimento da placenta bem como a troca de nutrientes (REESE et al., 2020).

Todos os inúmeros fatores citados que interferem na concepção e manutenção da gestação precisam ser considerados no planejamento de qualquer estação reprodutiva de uma fazenda, não só utilizando a MOET, mas também outras biotécnicas, como a IATF ou PIVE, pois causam repercussões financeiras e econômicas.

Recentemente o mercado de bovinos encontra-se bastante aquecido, essa valorização econômica é interessante para minimizar os gastos com as biotécnicas reprodutivas. A exemplo, Baruselli (2021) infere que o custo da prenhez por IATF representa atualmente 5% o valor do bezerro, em 2002 chegava a notórios 37%.

Esse cenário permite um crescimento importante para a pecuária brasileira, pois a utilização dessas ferramentas viabiliza a produção de animais com potencial genético para atender as exigências do mercado de corte ou leite que demanda incessantemente do constante aperfeiçoamento em qualidade e eficiência.

A propriedade tem realizado a transição de rebanho comercial para produção de genética. Os animais gerados pela MOET são registrados como Puros

por Cruzamento pela ABCZ. As fêmeas servirão de base de rebanho da própria fazenda, agregando fortemente no melhoramento genético das próximas gerações, e o macho comercializado como touro.

Doadora	Machos	Fêmeas	Total
Araponga de Morais	1	2	3
Canjerana de Morais	-	-	-
Sagrada de Morais	-	2	2

TABELA 2 – produtos obtidos da MOET.

Os investimentos realizados para a presente MOET são considerados de longo prazo e representaram valor total de R\$ 2.488,98, ou seja, R\$497,80 por produto. Obteve-se avanço genético pelo uso da biotécnica reprodutiva com a produção de bezerros de maior qualidade se comparados a estratégias reprodutivas anteriormente utilizadas como IATF e monta natural, além do encurtamento do intervalo de gerações e do melhor aproveitamento das doadoras.

A safra 2020/2021 de bezerros comerciais (IATF e monta natural) foi negociada por R\$2.900,00 a desmama, o que representaria 16% do custo da MOET/bezerro caso os mesmos fossem comercializados com essa finalidade. No entanto, esses animais estarão disponíveis a venda somente a partir dos 18 meses quando da emissão do Registro Genealógico Definitivo emitido pela ABCZ e acompanhado do devido exame andrológico atestando a aptidão para a reprodução no caso do macho, e as fêmeas assumem o quadro de doadoras da propriedade, tornando seu valor ainda maior, dado o potencial genético, morfológico, ao Registro Genealógico, manejo, sanidade e nutrição.

Os custos observados na MOET são superiores aos da IATF na propriedade, afinal a biotecnologia demanda de mais procedimentos e materiais, além de ter apresentado índices de prenhez inferiores. No entanto, o uso da técnica viabilizou principalmente a obtenção de produtos geneticamente superiores gerados a partir de matrizes sem significativo valor genético.

Possivelmente esses resultados tendem a ser mais produtivos em futuras estações de monta, esse argumento baseia-se na frequente seleção de matrizes com o descarte daquelas menos férteis e com baixa habilidade materna, com o melhor domínio e aprimoramento da técnica, dentre outras ações integradas. As experiências com IATF seguiram essa tendência, a cada ano observa-se

encurtamento da estação de monta, maior taxa de prenhez, bem como melhor qualidade genética dos animais produzidos. A última estação de monta da propriedade encerrou-se com total de 85% de matrizes gestantes.

6. CONCLUSÕES

A MOET é uma biotécnica de exequibilidade mesmo em pequenas propriedades, dispensa a necessidade da estrutura física de laboratório específico para a finalidade, além de que todos os procedimentos podem ser realizados na própria fazenda utilizando sua infraestrutura e recursos genéticos.

Os custos financeiros aplicados foram coerentes aos benefícios alcançados, dado principalmente pelo potencial do patrimônio genético conquistado por meio da técnica.

O aperfeiçoamento das habilidades técnicas, o histórico reprodutivo das matrizes, a incorporação de AINEs ao protocolo de TETF, a constante atenção e aprimoramento a nutrição, sanidade, bem-estar e manejo dos animais podem proporcionar resultados superiores em futuras MOET.

7. REFERÊNCIAS

ALVAREZ, R. H. Uma abordagem sucinta do “estado da arte” da transferência de embriões bovinos e tecnologias correlatas. **Jornal o embrião**, Jaboticabal, n.36, p. 11-15, 2008.

ALVAREZ, R. H. Dez questões sobre transferência de embriões em bovinos: o papel das receptoras. **Pesquisa & Tecnologia**, São Paulo, v. 6, n.2, p. 1-4, 2009.

ARRUDA, R. P.; CELEGHINI, E. C. C.; GARCIA, A. R.; SANTOS, G. C.; LEITE, T. G.; OLIVEIRA, L. Z.; Lançoni, R.; Rodrigues, M. P. Morfologia espermática de touros: interpretação e impacto na fertilidade. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 39, n. 1, p. 47-60, 2015.

Associação Nacional de Criadores e Pesquisadores – ANCP, Sumário de touros 2021. Disponível em: <https://www.ancp.org.br/wp/wp-content/uploads/2021/05/Sumario-ANCP-Maio-2021.pdf>. Acesso em: 23 jun. 2021.

BARIONI, L. G.; BELTRAME, R. T.; QUIRINO, C. R.; FERNANDES, D. R. Modelos determinista e estocástico em programas de transferência de embriões em bovinos. **Archivos Latino americanos de Producción Animal** [online], v.15, n.3, p.107-113, 2007. Disponível em: <http://www.bioline.org.br/pdf?la07016>. Acesso em: 19 jul. 2021.

BARUSELLI, P. S. Atualidades dos protocolos de IATF e TETF. In: Workshop Concept Plus, 2021, Uberaba.

BARUSELLI, P. S.; ELLIFF, F. M.; SILVA, L. G.; CATUSSI, B. L. C.; BAYEUX, B. M. Estratégias para aumentar a produção de embriões em bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 43, n. 2, p. 315-326, 2019.

BARUSELLI, P. S.; FERREIRA, R. M.; SALES, J. N. S.; GIMENES, L. U.; SÁ FILHO, M. F.; MARTINS, C. M.; RODRIGUES, C. A.; BÓ, G. A. Timed embryo transfer programs for management of donor and recipient cattle. **Theriogenology** [online], v. 76, n. 9, p. 1583-1593, 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X11002780?via%3Dihub#bib45>. Acesso em: 27 jul. 2021.

BARUSELLI, P. S.; GIMENES, L. U.; SALES, J. N. S. Fisiologia reprodutiva de fêmeas taurinas e zebuínas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 31, n. 2, p. 205-211, 2007.

BARUSELLI, P. S.; SOUZA, A. H.; MARTIN, C. M.; GIMENES, L. U.; SALES, J. N.S.; AYRES, H.; ANDRADE, A.F.C.; RAPHAEL, C. F.; ARRUDA, R. P. Sêmen sexado: inseminação artificial e transferência de embriões. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 31, n. 3, p. 374-381, 2007.

BEATTY, R. A. Transplantation of Mouse Eggs. **Nature** [online], v. 168, n. 4284, p. 995, 1951. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/168995a0.pdf>. Acesso em: 16 jul. 2021.

BESBACI, M.; ABDELLI, A.; BELABDI, D.; RABOISSON, D. Non-steroidal anti-inflammatory drugs at embryo transfer on pregnancy rates in cows: A meta-analysis. **Theriogenology** [online], v. 171, n. 1, p. 64-71, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X21001424>.

Acesso em: 16 jul. 2021.

BÓ, G. A. Pursuit of a means of manipulating ovarian function in the cow: An adventure of serendipity, collaboration and friendship. **Theriogenology** [online], v. 150, n. 1, p. 480-489, 2020. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X1630526X#sec1>.

Acesso em: 23 jul. 2021.

BÓ, G. A.; MORENO, D.; CUTAIA, L. BARUSELLI, P. S.; REIS, E. L. Manipulação hormonal do ciclo estral em doadoras e receptoras de embrião bovino. **Acta Scientiae Veterinariae** [online], v. 32, p.1-22, 2004. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/52204/1/RAC-Pre-sincronizacao.pdf>. Acesso em: 27 jul. 2021.

BORGES, G. B.; OLIVEIRA, R. A.; PIVATO, I. Transuterine embryo migration, distribution of sexes within uterine horns, and fetometry in Nelore (Bos indicus) cattle. **Theriogenology** [online], v. 90, n. 1, p. 49-53, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X2030176X#bib31>.

Acesso em: 29 jun. 2021.

BOSOLASCO, D.; NUÑEZ-OLIVERA, R. BRUN, V.; MEIKLE, A.; MENCHACA, A. Estradiol cypionate administered at the end of a progesterone-based protocol for FTAI induces ovulation and improves postovulatory luteal function and uterine environment in anestrous beef cows. **Theriogenology** [online], v. 162, n. 1, p. 74-83, 2021. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X2100011X>: Acesso em: 29 jun. 2021.

CASTRO NETO, A. S.; SANCHES, B. V.; BINELLI, M.; SENEDA, M. M.; PERRI, S. H.; GARCIA, J. F. Improvement in embryo recovery using double uterine flushing. **Theriogenology**, [online] v. 63, n. 5, p. 1249-1255, 2005. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X04002146>. Acesso em: 07 jul. 2021.

Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil – CNA, PIB do Agronegócio alcança participação de 26,6% no PIB brasileiro em 2020, 10 de março de 2021. Disponível em: <https://www.cnabrazil.org.br/boletins/pib-do-agronegocio-alcanca-participacao-de-26-6-no-pib-brasileiro-em-2020>. Acesso em: 28 maio 2021.

DANTAS, K. S. A.; CAMPELLO, C. C.; DANTAS, R. A. A.; NUNES, J. F. Seleção de receptoras em um programa de transferência de embriões (PIVE) em bovinos no nordeste do Brasil. **Ciência Animal** [online] v. 28, n. 1, p. 03-16, 2018. Disponível em: <http://www.uece.br/cienciaanimal/dmdocuments/v28p03-16.pdf>. Acesso em: 27 jul. 2021.

FERNANDES, C. A. C. Inovações não cirúrgicas e taxa de gestação de receptoras de embrião. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.51, n.3, p. 263-266, 1999.

FERRAZ, H. T. **Dinâmica folicular, concentração sérica de hormônio luteinizante e citologia vaginal de fêmeas nelore (bos taurus indicus) submetidas à sincronização da ovulação**. [online]. 2007. 59f. Dissertação (mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás. Disponível em: [https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/67/o/Dissertacao2007 Henrique Trevizoli.pdf](https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/67/o/Dissertacao2007%20Henrique%20Trevizoli.pdf).

Acesso em: 29 jun. 2021.

FONSECA, J. F.; SILVA FILHO, J. M.; PINTO NETO, A.; PALHARES, M.S. Estádios de desenvolvimento embrionário de vacas zebuínas superovuladas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.53, n.6, p. 671-676, 2001.

GADDIS, K. L. P.; DIKMEN, S.; NULL, D. J.; COLE, J. B.; HANSEN, P. J. Evaluation of genetic components in traits related to superovulation, in vitro fertilization, and

embryo transfer in Holstein cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 100, n. 4, p. 2877-2891, 2017.

GIVENS, M. D.; MARLEY, S. D. Approaches to biosecurity in bovine embryo transfer programs. **Theriogenology** [online], v. 69, n. 1, p. 129–136, 2008. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X07005596>. Acesso em: 27 jun. 2021.

GREGORY, R. M. MELO, L. C.; BESKOW, A.; MATTOS, R. C.; JOBIM, M. I. M.; GREGORY, J. W. Dinâmica folicular e uso de hormonioterapias na regulação do ciclo estral na vaca. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 1, n. 6, p. 148-152, 2009.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. **Reprodução animal**. 7.ed. Barueri: Manole, 2004. 513p.

HASLER, J. F. Forty years of embryo transfer in cattle: A review focusing on the journal *Theriogenology*, the growth of the industry in North America, and personal reminiscences. **Theriogenology** [online], v. 81, n. 1, p. 152–169, 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X13003737#bib44>.

Acesso em: 27 jun. 2021.

HONORATO, M.T; FERRO, R.A.C.; FERRO, D.A.C; SANTOS, K.J.C; COSTA, M.A.; RODRIGUES FILHO, J.L. Importância da escolha de receptoras em um programa de transferência de embriões em bovinos. **PUBVET, Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, Londrina, v. 7, n. 19, p. 1-28, 2013.

KARA, U.; ÇOBAN, S.; SAY, E.; HIZLI, H.; MUTLU, H.; NAK, Y.; SAĞIRKAYA, H.; AYŞAN, T.; ÇOŞKUN, M. A.; ASARKAYA, A.; ERTEN, H. E.; YILMAZ, I.; YAZGAN, E.; ERDOĞAN, İ. E.; ERTEN, Z. M.; ERGÜL, Ş.; SERT, F. Effect of embryo quality on pregnancy outcome in recipient cows and heifers. **Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society**, [online], v. 71, n. 2, p. 2235–2242, 2020. Disponível em:

<https://ejournals.epublishing.ekt.gr/index.php/jhvms/article/view/24171/20239>.

Acesso em: 27 jun. 2021.

LAGE, A. P. Aspectos sanitários na seleção de receptoras de embriões. **Jornal o embrião**, Jaboticabal, n.7, p. 4-5, 2000.

MACHATY, Z.; PEIPPO, J.; PETER, A. Production and manipulation of bovine embryos: Techniques and terminology. **Theriogenology**, [online] v. 78, n. 5, p. 937-950, 2012. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X12002361#bib71>.

Acesso em: 07 jul. 2021.

NASSER, L. F.; REIS, E. L.; OLIVEIRA, M. A.; BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S. Comparison of four synchronization protocols for fixed-time bovine embryo transfer in *Bos indicus* × *Bos taurus* recipients. **Theriogenology**, [online] v. 62, n. 9, p. 1577-1584, 2004. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X0400113X>. Acesso em: 27 jun. 2021.

NICACIO, A. C. Até onde chega o impacto da produção in vitro de embriões bovinos. In: EMBRAPA. Webmaster CEZAR, E. Embrapa, 2021. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/59016621/artigo---ate-onde-chega-o-impacto-da-producao-in-vitro-de-embrioes-bovinos>. Acesso em: 23 jun. 2021.

NOGUEIRA, E.; MINGOTI, G. Z.; NICACIO, A. C. Biotécnicas reprodutivas para aceleração do melhoramento genético. In: ROSA, A. N.; MARTINS, E. N.; MENEZES, G. R. O.; SILVA, L. O. C. **Melhoramento genético aplicado em gado de corte: Programa Geneplus-Embrapa**. Brasília, DF: Embrapa Gado de Corte, 2013. cap. 16, p. 195-211.

NOGUEIRA, M. F. G. ERENO, R. L. BARROS, C. M. SENEDA, M. M. Protocolos de sincronização da ovulação para bovinos: customização ou exagero?. **Jornal o embrião**, Jaboticabal, n. 59, p. 6-19, 2017.

OLIVEIRA, C. S.; SARAPIÃO, R. V.; QUINTÃO, C. C. R. **Biotécnicas da reprodução em bovinos**, 1.ed., Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2014. 52p. [Apostila].

PENITENTE FILHO, J. M.; OLIVEIRA, F. A.; JIMENEZ, C.R.; TORRES, C. A. A. **Produção de embriões bovinos in vivo e in vitro**, 84.ed., Viçosa: Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, 2013. 17p. [Apostila].

PHILLIPS, P. E.; JAHNKE, M. M. Embryo Transfer (Techniques, Donors, and Recipients). **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice** [online], v. 32, n. 2, p. 365-385, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0749072016000098>. Acesso em: 27 jun. 2021.

PIERONI, J. S. P. **Influência do local de inovulação de embriões produzidos in vivo e in vitro sobre as taxas de concepção de fêmeas bovinas e sua relação com a morfologia uterina**. [online]. 2009. 137f. Dissertação (mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal. Disponível em:

https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/98184/pieroni_jsp_me_jabo.pdf?sequence=1. Acesso em: 27 jul. 2021.

PIVATO, I. SUPEROVULAÇÃO DE DOADORAS E SINCRONIZAÇÃO DE RECEPTORAS DE EMBRIÕES. Brasília-DF. UNB. 14 dez. 2020. Apresentação em PowerPoint. 77 slides. color.

PRADO, F. R. A. **Técnicas de superovulação, colheita e transferência de embriões em bovinos**. [online]. 2005. 27f. Monografia (mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu. Disponível em: <http://www.geocities.ws/andbt/semi05/Fabricio.pdf>. Acesso em: 26 jun. 2021.

PRESTES, N. C.; LANDIM-ALVARENGA, F. C. Obstetrícia veterinária. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. 218p.

REESE, S. T.; FRANCO, G. A.; POOLE, R. K.; HOOD, R.; FERNANDEZ MONTERO, L.; OLIVEIRA FILHO, R. V.; COOKE, R. F.; POHLER, K.G. Pregnancy loss in beef cattle: A meta-analysis. **Theriogenology**, [online] v. 212, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378432019308188?via%3Dihub>. Acesso em: 29 jul. 2021.

RICHARD, C.; HUE, I.; GELIN, V.; NEVEUX, A.; CAMPION, E.; DEGRELLE, S. A.; HEYMAN, Y.; CHAVATTE-PALMER, P. Transcervical collection of bovine embryos up to Day 21: An 8-year overview. **Theriogenology**, [online] v. 83, n. 7, p. 1101-1109, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X14006785#fig1>.

Acesso em: 07 jul. 2021.

- ROLIM, A. F. M. **Produção animal: bases da reprodução, manejo e saúde**. 1.ed. São Paulo: Érica, 2014. 135p.
- SCANAVEZ, A. L.; CAMPOS, C. C.; SANTOS, R. M. Taxa de prenhez e de perda de gestação em receptoras de embriões bovinos produzidos in vitro. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 65, n. 3, p. 722-728, 2013.
- SELK, G. Embryo transfer in cattle. **Division of Agriculture and Natural Resource**, Oklahoma, v. 3158, p.1-4, 2010.
- SILVEIRA, J. C.; PUGLIESI, G. Você conhece o programa Sebraetec FIV?. **Jornal o embrião**. Jaboticabal, v.66, p. 6-10, 2021.
- STRINGFELLOW, D.A.; SEIDEL, S.M. **Manual da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões**. 3.ed. Illinois: IETS, 1998. 180p.
- STROUD, B.; HASLER, J. F. Dissecting why superovulation and embryotransfer usually work on some farmsbut not on others. **Theriogenology**, v.65, p. 65–76, 2006.
- TAROUCO, A. F.; TAZZO, I. F.; TAROUCO, J. U.; FEIJÓ, F.; SILVEIRA, C. S.; BREMM, C.; AMARAL, G. A.; MATOS, E. U. Efeitos de fatores bioclimáticos no desempenho de fêmeas Brangus e Angus submetidas à Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF). **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, Porto Alegre, v. 26, n. 1, p. 68-81, 2020.
- VIANA, J. H. M. **Classificação de embriões bovinos produzidos in vivo**, 1.ed., Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2009. 4p. [Apostila].
- VIANA, J. H. M. Produção e transferência de embriões bovinos em 2018. **Jornal o embrião**. Jaboticabal, v.64, p. 6-10, 2019.
- VIANA, J. H. M. Estatísticas do mercado de embriões **Jornal o embrião**. Jaboticabal, v.67, p. 26-31, 2021.

8. PARTE II – RELATÓRIO DE ESTÁGIO

O estágio curricular supervisionado foi realizado no período de 01 jul. 2021 a 30 set. 2021 com duração de 40 horas semanais, totalizando carga horária de 480 horas. O local escolhido foi o Campo Experimental Sucupira Assis Roberto de Bem – Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Refere-se a uma unidade com área total de 1.800 hectares localizada no Riacho Fundo II no Distrito Federal.

A unidade conta com uma grande infraestrutura para o desenvolvimento de diversas atividades biotecnológicas, como os laboratórios de reprodução animal que atendem as demandas nos segmentos da reprodução de machos e fêmeas. A fazenda dispõe ainda de um vasto rebanho de bovinos para ensaios e experimentos científicos, além do Banco Brasileiro de Germoplasma Animal composto por bovinos, suínos, ovinos, equinos, caprinos e asininos que estão sob ameaça de extinção.

O estágio permitiu a vivência e experiência de inúmeras atividades inerentes ao contexto da reprodução animal bovina. Dentre as quais cita-se: realizações contínuas e sistemáticas de exames ginecológicos por palpação retal e por ultrassonografia transretal, que permitiram diagnosticar a presença de cistos ovarianos, mucometra, dentre outras alterações. Ainda a realização de diagnóstico de gestação em diferentes estágios de desenvolvimento fetal.

Em virtude a vigência de experimentos, ensaios e projetos de pesquisas várias atividades ocorreram nas mais diversas frentes. Frequentemente realizou-se exames clínicos, coleta de sangue para análises laboratoriais de hemograma, leucograma, dosagens séricas hormonais em bovinos, punções ovarianas para biopsia, preparo de suplementos, pesagens de animais, aplicação de fármacos e pour-on, análises de exames, planilhas e interpretação de dados obtidos semanalmente com os experimentos.

Quinzenalmente ocorria aspiração folicular de um grupo de 24 animais, onde realizava auxílio ao orientador do estágio, o pesquisador Dr. João Henrique Moreira Viana durante os procedimentos. Fora desses momentos foi possível realizar continuamente treinamentos em vacas destinadas para tal finalidade como: exames ginecológicos, inseminação artificial, transferência de embriões e aspiração folicular.

A rotina de laboratório envolvia procura e rastreamento dos ovócitos aspirados, bem como preparação de meios e materiais, montagem, desmontagem e higienização de equipamentos.

Acompanhou-se diariamente também protocolos de sincronização de estro e superestimulação ovariana de vacas e bezerras, as respostas a esses tratamentos eram sistematicamente avaliadas todos os dias por exames de imagens ultrassonográficas e laboratoriais, permitindo o conhecimento e ajustes de doses, além de fortes e embasadas discussões sobre fisiologia endócrina e ovariana.

Outras atividades rotineiras incluíram o fornecimento de suplementos aos bovinos, curativos, tratamento de míiases, conferência de estoque, higienização e organização de materiais e equipamentos utilizados no trabalho com os animais.

Paralelamente acompanhou-se atividades ligadas a reprodução na Unidade Experimental da Fazenda Água Limpa – Universidade de Brasília, no Centro de Manejo de Ovinos, Centro de Capacitação em Bovinos de Leite e Laboratório de Reprodução Animal da referida instituição. Realizou-se exames ginecológicos e diagnósticos de gestação de fêmeas bovinas por palpação retal e com auxílio de ultrassom para a espécie ovina.

Semanalmente realizava exames andrológicos de ovinos, as funções envolviam a preparação de vagina artificial, coleta de sêmen, exames imediatos: volume, turbilhonamento, vigor, motilidade e exames mediatos: concentração e morfologia espermática, além da higienização e armazenamento de materiais e equipamentos envolvidos.

As vivências oportunizadas pelo estágio supervisionado foram relevantes para consolidação e aquisição de habilidades profissionais no âmbito da reprodução animal de ruminantes. Tratou-se de um momento de constantes estudos sobre a temática aliado a experiências práticas que agregaram positivamente.