

Centro Universitário de Belo Horizonte

Medicina Veterinária

Luiza de Oliveira Alves Andrade

Maria Clara Ruas Alvarenga

Nathália Alice Reis de Melo

**Efeito de estações do ano no desenvolvimento “*in vitro*” de embriões  
bovinos**

BELO HORIZONTE

2023

**Efeito de estações do ano no desenvolvimento “*in vitro*” de embriões  
bovinos**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Centro Universitário de Belo Horizonte, como parte das exigências para a obtenção do título de bacharel em  
Medicina Veterinária

Orientadora: Dra. Alessandra Silva Dias Campos

BELO HORIZONTE

2023

## **AGRADECIMENTO**

Gostaríamos de expressar nossa profunda gratidão a todos aqueles que foram essenciais para o desenvolvimento deste trabalho de conclusão de curso.

À Deus, por nos manter perseverantes, confiantes e por nos dar coragem para superar todos os desafios que nos foram impostos.

Aos nossos pais, irmãos e familiares, pelo eterno apoio, amor incondicional e incentivo durante todo o curso.

Aos nossos amigos, pela compreensão em momentos de ausência, pelos momentos de descontração e pelo companheirismo.

Aos colegas de profissão Luciano Carvalheira e Raphael Nunes por todo apoio durante a pesquisa.

Aos professores, que durante 60 meses nos acompanharam, inspiraram e nos ajudaram a crescer intelectualmente.

À UniBH, por nos fornecer um excelente ambiente de aprendizagem para podermos trilhar nosso caminho para um futuro profissional promissor.

À nossa orientadora Alessandra, pelo auxílio necessário para a elaboração desse projeto, pela paciência e pela disposição.

Enfim, deixamos aqui nossos agradecimentos a todos aqueles que foram importantes nessa etapa decisiva de nossas vidas.

## **RESUMO**

A produção *in vitro* de embriões em bovinos é uma prática essencial para a indústria pecuária, especialmente no Brasil, devido à sua relevância econômica. As variações sazonais, particularmente durante o verão, outono e inverno, desempenham um papel crucial nesse processo. O estudo visou analisar como essas estações afetam o desenvolvimento embrionário, concluindo que embriões produzidos no verão apresentaram maior competência de desenvolvimento, apesar do estresse térmico, devido à melhor nutrição proporcionada pelas condições climáticas. Em contraste, embriões *in vitro* produzidos no inverno clivaram com maior eficiência, mas tiveram dificuldades em avançar no estágio de blastocisto. A compreensão desses efeitos sazonais é crucial para otimizar a reprodução bovina, garantindo a sustentabilidade e lucratividade da indústria.

## **PALAVRAS - CHAVES**

Produção *in vitro* de embriões, estresse térmico em bovinos, sazonalidade reprodutiva, embriões bovinos, clivagem, oócitos e blastocisto.

## **ABSTRACT**

*In vitro* production of embryos in cattle is an essential practice for the livestock industry, especially in Brazil, due to its economic significance. Seasonal variations, particularly during summer, autumn, and winter, play a crucial role in this process. The study aimed to analyze how these seasons affect embryonic development, concluding that embryos produced in the summer exhibited greater developmental competence, despite thermal stress, owing to the better nutrition provided by the climatic conditions. In contrast, *in vitro*-produced embryos in the winter cleaved more efficiently but faced challenges in progressing to the blastocyst stage. Understanding these seasonal effects is crucial for optimizing bovine reproduction, ensuring the sustainability and profitability of the industry.

## **KEYWORDS**

*In vitro* embryo production, Thermal stress in cattle, Reproductive seasonality, Bovine embryos, Cleavage, Oocytes e Blastocyst.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	06
2. OBJETIVOS.....	08
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	08
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	10
5. CONCLUSÃO.....	13
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	13

## INTRODUÇÃO

A produção *in vitro* de embriões (PIV) se desenvolveu em várias espécies pouco tempo após o nascimento de Louise Brown, o primeiro bebê concebido *in vitro* no mundo, em 1978, na Inglaterra (Steptoe e Edwards, 1978). Após esse marco, em 1982, aconteceu o nascimento do primeiro bezerro bovino concebido por fertilização *in vitro*, nos Estados Unidos (Brackett et al., 1982). No Brasil, essa técnica começou a ser desenvolvida no ano de 1998, com o apoio financeiro parcial da Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e das empresas Beabisa Agricultura Ltda e Gertec Tecnologia de Embriões (Galli, 2003). No ano de 2009, foram realizadas as primeiras transferências de embriões bovinos produzidos *in vitro* por outras empresas comerciais no Brasil (Viana et al., 2017). Com o passar do tempo, o Brasil passou a dominar a fertilização *in vitro*, ocupando uma posição importante no mercado de embriões bovinos, principalmente por possuir o maior rebanho comercial do mundo, e ser o principal exportador de carne bovina (Seneda et al., 2002).

As estações do ano afetam a reprodução *in vitro* em bovinos devido à sazonalidade reprodutiva, mudanças na qualidade do sêmen, influência das condições ambientais, disponibilidade sazonal de recursos e eficiência do manejo. Compreender e adaptar os procedimentos de reprodução de acordo com essas mudanças sazonais é crucial para melhorar as taxas de sucesso da reprodução assistida em bovinos (Barth e Waldner, 2002). O verão, caracterizado pela temporada de chuvas, proporciona condições ideais, com maior disponibilidade de alimentos, aporte de nutrientes e níveis adequados de umidade, favorecendo assim a atividade reprodutiva. No entanto, é importante destacar que o estresse térmico pode surgir como um desafio durante o processo de fertilização nessa estação. Por outro lado, o inverno, marcado pela estação seca, oferece temperaturas mais amenas, mas oferece o desafio da escassez de alimentos, o que pode se tornar um obstáculo significativo para a produção de novos embriões. O outono representa a transição entre essas duas realidades climáticas. Quando se produz embriões em laboratório, os principais efeitos das estações do ano e das mudanças anuais estão ligados tanto à nutrição que os embriões recebem quanto ao clima (Melo et al., 2016). Dessa maneira, as

condições do ambiente são um dos fatores que mais exercem influência no modo como os animais se comportam e têm um impacto direto na quantidade e qualidade de oócitos e embriões (Azevedo et al., 2005; Peixoto et al., 2006; Veloso Neto et al., 2014).

A influência das estações do ano, nomeadamente o verão, outono e inverno, desempenham um papel de extrema importância na fertilização e desenvolvimento embrionário em bovinos. O clima é um dos fatores que mais influencia o bem-estar dos animais. Isso acontece porque a forma como os animais produzem e procriam está relacionada com o clima e as condições do lugar onde vivem. Os animais precisam estar sempre em um local onde tenham conforto térmico, pois a capacidade de reprodução de cada animal é de grande importância econômica em todo o processo de criação (Carvalho et al., 1995). A maior parte do Brasil está situada em áreas tropicais, que possuem o calor e a umidade como principais características climáticas. Isso faz com que o estresse térmico afeta a saúde e o comportamento desses animais, diminua a produtividade, gerando grande dificuldade de manter a gestação, o que, por sua vez, tem um grande efeito negativo na produção e na capacidade de reprodução dos animais expostos, resultando em perdas econômicas significativas (Cruz et al., 2011). Animais em estresse térmico sofrem alterações comportamentais e fisiológicas na tentativa de manter a temperatura corporal neutra (temperatura normal de um bovino: 38°C), reduzindo o efeito provocado pelo calor e/ou frio (Ferro, 2011), pois o ambiente influencia diretamente o desempenho do animal, tanto de forma positiva quanto negativa, de acordo com o nível de conforto e/ou estresse (Silva et al., 2000). Outro fator que causa estresse e afeta os resultados da produção de embriões em laboratório é a quantidade e qualidade da alimentação fornecida, especialmente quando os animais se alimentam ao ar livre (Almeida et al., 2007). Entre os fatores que afetam a reprodução, a nutrição desempenha um papel amplamente reconhecido, já que influencia diretamente aspectos da fisiologia e do desempenho reprodutivo das vacas. Vários estudos relacionaram a má nutrição à redução da fertilidade, especialmente em vacas leiteiras, identificando o desequilíbrio energético pós-parto (DEPP) como uma possível causa, indicado pela diminuição do índice de condição corporal (ICC)

(Moreira et al., 2000; Lopez-Gatiús et al., 2002). A variação sazonal na produção de forrageiras tropicais leva a uma abundância de matéria seca durante as estações chuvosas (primavera/verão) e escassez durante as estações secas (outono/inverno), afetando negativamente o crescimento constante e uniforme dos animais ao longo do ano. O estresse térmico traz uma ampla variedade de impactos negativos na bovinocultura mundial, principalmente na produção e reprodução. St Pierre et al. (2003) estimaram perdas de aproximadamente 900 milhões de dólares pelas indústrias dos Estados Unidos a cada ano, sendo que estas podem chegar a 1 bilhão de dólares.

## **OBJETIVOS**

O presente estudo tem como objetivo principal analisar como as estações verão, outono e inverno afetam o desenvolvimento embrionário de oócitos obtidos de ovários bovinos provenientes de matadouros. A pesquisa fornece uma compreensão mais abrangente dos fatores de estresse térmico e nutrição, pois são de grande influência na fertilidade e reprodução em bovinos. Os resultados obtidos permitirão melhor gestão e otimização da reprodução bovina, visando aumentar a produtividade e o bem-estar desses animais, contribuindo assim para a sustentabilidade e lucratividade da indústria pecuária, que hoje é um grande pilar para a economia brasileira.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

O processo da pesquisa sobre o efeito de estações do ano sob o desenvolvimento “in vitro” de embriões foi realizada seguindo o protocolo padrão da empresa Cenatte Embriões, situada em Pedro Leopoldo, Minas Gerais. Inicialmente foram coletados ovários oriundos de matadouros e foi realizada a aspiração folicular utilizando uma agulha acoplada a seringa de 10ml. Após a coleta dos oócitos, os mesmos foram encaminhados para o rastreamento, onde passam pelos processos de lavagem e filtração e posteriormente foram selecionados quanto à quantidade e qualidade do cumulus, que são células que estão ligadas aos oócitos pelas junções tipo gap, atuando na transferência de íons, metabólitos e aminoácidos que regulam o crescimento e maturação do oócito (FAIR, 2003; KRISHER, 2004). Após estas etapas, os oócitos foram

encaminhados para o processo de maturação, onde foram contabilizados 3.578 oócitos maturados (696 no verão, 1221 no outono e 1661 no inverno). Posteriormente, ocorreu à fecundação in vitro e cultivo nas quais os oócitos foram fecundados com espermatozoides advindos do sêmen de touro da raça Guzerá, do tipo convencional e de mesma partida, na concentração de  $1 \times 10^6$  espermatozoides/ $\mu\text{L}$ . Por fim, foi realizado o cultivo por 48 horas em placa específica. Cada oócito foi considerado uma unidade experimental e as variáveis avaliadas foram; taxa de clivagem, taxa de blastocisto e classificação dos embriões. A taxa de clivagem consiste na contagem do número de estruturas divididas após a etapa de cultivo, a taxa de blastocisto ocorre 7 dias depois, avaliando o número de blastocistos. A classificação dos embriões foi realizada avaliando a taxa em cada estágio de blastocisto, sendo embrião grau 1, embrião BL (embriões grau 1 no estágio de blastocisto), BX (embriões grau 1 no estágio de blastocisto expandido), BX S/R (embriões grau 1 no estágio de blastocisto semi-regredido), BX EC (embriões grau 1 no estágio blastocisto eclodindo) e BE (embriões grau 1 no estágio blastocisto eclodido). Por fim, foi avaliada a qualidade dos embriões seguindo a tabela recomendada pela Sociedade Internacional de Transferência de Embriões (“International Embryo Transfer Society”- IETS), apresentado na tabela 01. As análises estatísticas foram realizadas com Software GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, CA, USA) e foram consideradas respostas binárias e avaliadas pelo teste de Chi-Square em tabela de contingência.

Código	Classificação	Descrição
1	Excelente ou bom	Massa embrionária simétrica e esférica, com blastômeros uniformes em tamanho, cor e densidade. Estádio de desenvolvimento adequado. Ao menos 85% do material celular variável, poucas extrusas. Zona pelúcia lisa.
2	Regular	Irregularidades moderadas na forma ou tamanho da massa embrionária, ou na cor e densidade das células individuais. Ao menos 50% do material celular viável.

3	Pobre	Irregularidades maiores na forma da massa embrionária ou no tamanho, cor e densidade das células individuais. Ao menos 25% do material celular viável.
4	Morto ou degenerado	Embriões não viáveis, ou com desenvolvimento parado e/ou muito atrasado.

Tabela 1 - Adaptado do Manual da International Embryo Transfer Society, 3ª edição, traduzida para o português em 1999.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os oócitos obtidos no inverno apresentaram maior competência para iniciar o desenvolvimento embrionário, contudo, estes que clivaram, apresentaram reduzida competência para alcançar o estágio de blastocisto no dia 7 (D7) quando comparado com os obtidos no verão. Os resultados citados anteriormente concordam com os de ZERON et al., 2001, onde foi relatado que os efeitos do estresse térmico afetam as propriedades físicas e bioquímicas das membranas celulares, conferindo diferença na morfologia de oócitos no inverno em relação ao verão e, ainda, um maior teor de ácidos graxos saturados no verão e de poliinsaturados no inverno. Já os oócitos obtidos no verão apresentaram reduzido potencial para clivar, como nos estudos realizados por Roth e Hansen (2005), que concluíram que o estresse térmico pode acelerar a quebra da vesícula germinativa, entretanto logo parece haver um efeito compensatório com o bloqueio desses oócitos em metáfase I, anáfase I e telófase I, conseqüentemente reduzindo as taxas de MII (Metáfase II). Entretanto, os embriões clivados nesta estação apresentaram maior competência para desenvolverem até o estágio de blastocisto, pois apesar do estresse térmico, existem fatores de grande influência na reprodução, como o sêmen, qualidade do corpo lúteo, qualidade do embrião, estado nutricional de doadoras e receptoras, já citados anteriormente por COELHO et al., 1998; ANDRADE et al., 2012; PEREIRA, 2012; COLOMBO et al., 2014. Possivelmente com efeito da estação chuvosa a redução na clivagem ocorreu por efeito do estresse térmico, que tem grande influência na capacidade de reprodução dos animais (tabela 2), porém o aporte nutricional permitiu que mais embriões que iniciaram o desenvolvimento progrediram até o D7, pois como relatado por FRANCO et al.,

2016, a compreensão da relação entre nutrição e reprodução é um fator importantíssimo, pois os dois pontos devem andar juntos quando o objetivo é aumento do desempenho reprodutivo. Já no período de seca a deficiência nutricional pode ter interferido na ativação do genoma embrionário e conseqüentemente na programação do desenvolvimento, e de acordo com BÓ et al., 2005; BADR et al., 2007, o desenvolvimento inicial do embrião é extremamente dinâmico e repleto de transformações morfológicas e moleculares.

FR	TR	NÍVEIS DE ESTRESSE
23/min	38,3°C	Não há estresse nenhum.
45 a 65/min	38,4°C 38,6°C	a O estresse está sob controle; o apetite, mas a reprodução e a produção estão estáveis.
70 a 75/min	39,1°C	Início do estresse térmico; menor apetite, mas a reprodução e a produção estão estáveis.
90/min	40,1°C	Estresse acentuado; cai o apetite, a produção diminui, os sinais de cio diminuem.
100 a 120/min	40,9°C	Estresse sério; grandes perdas na produção, a ingestão diminui 50% e a fertilidade pode cair para 12%.
> 120/min	>41°C	Estresse mortal: as vacas expõem a língua e babam muito, não conseguem beber água e se alimentarem.

Tabela 2 - Adaptado de Variáveis fisiológicas e dos níveis de estresse térmico (PIRES & CAMPOS, 2004).

Destacam-se a transição materno-fetal, a ativação do genoma embrionário, a compactação e a diferenciação celular como momentos cruciais em que a expressão de genes específicos é necessária para garantir um desenvolvimento embrionário adequado. A taxa de embriões grau 1 foi maior quando os oócitos

foram obtidos no verão em comparação aos obtidos no outono e no inverno (tabela 3).

Estações do ano	Taxa (%)						
	Clivados	Grau 1	BL	BX	BX S/R	BX EC	BE
Verão	73	38,07	6,04	48,68	13,21	14,72	17,36
Outono	75	32,10	11,22	58,16	13,01	12,24	5,36
Inverno	80	32,87	2,93	67,03	10,99	12,45	6,59
Total	77	33,62	6,32	60,10	12,14	12,88	8,56

Tabela 3 - Taxa dos embriões por estação do ano e classificação. Software GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, CA, USA).

Em relação ao total de embriões grau 1 produzidos em cada grupo (tabela 4), a taxa de blastocistos no estágio de blastocisto (BE) foi maior no outono do que no verão e inverno. Em relação ao estágio de blastocisto expandido (BX), a maior taxa foi observada no inverno, seguido do outono e a menor no verão, sendo justificado por estudos como o de FIGUEREDO JUNIOR, 2013, no qual relata que as altas temperaturas podem afetar a eficiência reprodutiva de forma direta e indireta, por meio do estresse térmico, podendo gerar retardamento da maturidade sexual, interferência na fertilidade do ovócito e no desenvolvimento inicial do embrião e manutenção da gestação. Em contrapartida, a taxa de blastocisto eclodido (BE) foi maior quando os oócitos foram obtidos no verão, possivelmente devido ao aporte nutricional das doadoras, pois de acordo com estudos a ingestão de nutrientes age em vários níveis do eixo hipotálamo-hipófise-gônada e afeta fatores de crescimento de origem sistêmica ou local que controlam direta ou indiretamente a função ovariana e a produção embrionária (ARMSTRONG et al., 2001; GONG et al., 2002a). Sendo assim, foi observado que a taxa de embriões clivados foi maior no inverno em relação ao outono e ao

verão, sustentando-se em relatos como o de HANSEN, 2007 onde é concluído que o estresse térmico tem efeito sobre os folículos de vacas, resultando na produção de oócitos com menor capacidade de fertilização, e caso haja a fertilização, os embriões passam a ter desenvolvimento anormal.

Estações do ano	Repetições	N° total							
		Oócitos maturado	Clivados	Grau 1	BL	BX	BX S/R	BX EC	BE
Verão	10	696	508	265	16	129	35	39	46
Outono	16	1221	919	392	44	228	51	48	21
Inverno	10	1661	1332	546	16	366	60	68	36
Total	36	3578	2759	1203	76	723	146	155	103

Tabela 4 - Número total de embriões por estação do ano e classificação. Software GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, CA, USA)

## CONCLUSÃO

Os resultados apresentados sugerem de acordo com análises estatísticas realizadas e estudos referenciados, que os embriões produzidos no verão apresentaram maior competência em avançar no desenvolvimento com maior proporção de embriões já eclodidos, enquanto nas outras duas estações, as maiores taxas ocorreram para os estágios mais iniciais do blastocisto. Dessa forma, inferimos que houve maior produtividade de embriões devido ao aporte nutricional obtido pelos animais devido à grande disponibilidade de pasto que as condições climáticas desta estação proporcionam, não sendo considerado o maior gargalo o estresse térmico.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, J. V. N.; MARQUES, L. R.; MARQUÊS, T. C.; GUIMARÃES, K. C.; LEÃO, K. M. **Influência do estresse térmico sobre os aspectos produtivos e reprodutivos de bovinos** - revisão. Rio Verde: Instituto Federal de Educação,

Ciência e Tecnologia Goiano, 2020. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/341391392\\_Influencia\\_do\\_estresse\\_terminico\\_sobre\\_os\\_aspectos\\_produtivos\\_e\\_reprodutivos\\_de\\_bovino](https://www.researchgate.net/publication/341391392_Influencia_do_estresse_terminico_sobre_os_aspectos_produtivos_e_reprodutivos_de_bovino). Acesso em: 20 set. 2023.

ANDRADE, G. A. et al. **Fatores que afetam a taxa de prenhez de receptoras de embriões bovinos produzidos in vitro**. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v. 36, n. 1, p. 66-69, 2012. Disponível em: <http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v36n1/pag66-69.pdf> Acesso em: 20 set. 2023.

AZEVEDO, M.; PIRES, M.F.A.; SATURNINO, H.M. et al. **Estimativa de níveis críticos superiores do índice de temperatura e umidade para vacas leiteiras 1/2, 3/4 e 7/8 Holandês-Zebu em Lactação**. Revista Brasileira de Zootecnia, v.34, p.2000-2008, 2005. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbz/a/GQGXFShFs3p9kMkxMnSH8VK/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 16 out. 2023.

ARMSTRONG, D.G.; MCEVOY, T.G.; BAXTER, G.; ROBINSON, J.J.; HOGG, C.O.; WOAD, K.J.; WEBB, R. **Effect of dietary energy and protein on bovine follicular dynamics and embryo production in vitro: Associations with the ovarian insulin-like growth factor system**. Biology of Reproduction, Madison, v. 64, p. 1624–1632, 2001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11369588/>. Acesso em: 25 out. 2023.

BADR, H.; BONGIONI, G.; ABDOON, A. S. S.; KANDIL, O.; PUGLISI, R. **Gene expression in the in vitro-produced preimplantation bovine embryos**. Zygote, v. 15, n. 4, p. 355–367, 2007. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17967215/>. Acesso em: 25 out. 2023.

BARTH, A. D.; WALDNER, C. L. **Factors affecting breeding soundness classification of beef bulls examined at the Western College of Veterinary Medicine**. Canadian Veterinary Journal, v. 3, p. 274-284, 2002. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC339235/>. Acesso em: 15 out. 2023.

BÓ, G. A.; CUTAIA, L.; CHESTA, P.; BALLA, E.; PICINATO, D.; PERES, L.; MARAÑA, D.; AVILÉS, M.; MENCHACA, A.; VENERANDA, G.; BARUSELLI, P. **S. Implementacion de programas de inseminación artificial en rodeos de cría de Argentina.** Proceedings VI Simposio Internacional de Reproducción Animal Córdoba ARIRAC, Córdoba, Argentina, 2005. Disponível em: <https://repositorio.usp.br/item/001451527>. Acesso em: 25 out. 2023.

BARBOSA E DAMASCENO (2002) apud MAECHEZAN, W. M. **Estresse térmico em bovinos leiteiros (monografia).** Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2013. Disponível em: [https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/12457/TCCE\\_RAPSMVCGA\\_2013\\_MARCHEZAN\\_WILIAN.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/12457/TCCE_RAPSMVCGA_2013_MARCHEZAN_WILIAN.pdf?sequence=1&isAllowed=y). Acesso em: 25 set. 2023.

BRACKETT, B. G.; BOUSQUET, D.; BOICE, M. L.; DONAWICK, W. J.; EVANS, J. F.; DRESSEL, M. A. **Normal development following in vitro fertilization in the cow.** Biology of Reproduction, v. 27, p. 147-158, 1982. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6896830/>. Acesso em: 15 out. 2023.

CARVALHO, F.A., et al. **Breed effects thermoregulation and epithelial morphology in imported and native cattle subjected to heat stress.** Journal Animal Science, v.73, p.3570-3573, dez. 1995. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8655430/>. Acesso em: 16 out. 2023.

COELHO, L.A., et al. **Avaliação das condições de maturação oocitária e do efeito do reprodutor na produção in vitro de embriões bovinos.** Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, São Paulo, v. 35, n. 3, p. 120-122, 1998. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjvras/a/fXKSVnd8YPWnx6zGpvCyWkw/?lang=pt>. Acesso em: 25 out. 2023.

COLOMBO, A. H. P., et al. **Efeito do período e donúmero de animais na taxa de prenhez dereceptoras submetidas à transferência de embriões provenientes da produção in vitro.** Revista em Agronegócios e Meio Ambiente, Maringá, v.7, n.1,p.11-19, 2014.Disponível em:

<https://periodicos.unicesumar.edu.br/index.php/rama/article/view/2328/2167>. Acesso em: 16 out. 2023.

CRUZ, L. V. et al. **Efeitos do estresse térmico na produção leiteira: Revisão de literatura**. Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária, Graça, n. 16, 2011. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/03be/a5aad1653a48c3f1611b905cd77661e72778.pdf>. Acesso em: 16 out. 2023.

DELA RICE GISELE; MODENA ORSI ALESSANDRA; DOMINGUES FRANCISO PAULO. **Estresse calórico e suas interferências no ciclo de produção de vacas de leite** – Revisão. Vet. e Zootec., v. 20, n. 3, 2013. Disponível em: <https://rvz.emnuvens.com.br/rvz/article/view/1028>. Acesso em: 07 out. 2023.

DE CASTRO, L.A.; HANSEN, P.J. **Interactions between oxygen tension and glucose concentration that modulate actions of heat shock on bovine oocytes during in vitro maturation**. Theriogenology, Stoneham, v. 68, p. 763-770, 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X07003330>. Acesso em: 25 out. 2023.

FAIR, T. **Follicular oocyte growth and acquisition of developmental competence**. Animal Reproduction Science, v. 78, p. 203-216, 2003. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12818645/>. Acesso em: 25 out. 2023.

FERRO DAC (2011) **Efeitos dos elementos climáticos na produção e reprodução de vacas leiteiras**. Dissertação, Universidade Federal de Goiás. Disponível em: [https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/67/o/semi2011\\_Diogo\\_Ferro\\_1c.pdf](https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/67/o/semi2011_Diogo_Ferro_1c.pdf). Acesso em: 25 out. 2023.

GALLI, C., DUCHI, R., CROTII, G. Et al. **Bovine embryo technologies**. Theriogenology, v.59, p.599-616, 2003. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/getaccess/pii/S0093691X02012438/purchase>. Acesso em: 25 out. 2023.

GONG, J.G.; LEE, W.J.; GARNSWORTHY, P.C.; WEBB, R. **Effect of dietary induced increases in circulating insulin concentrations during the early postpartum period on reproductive function in dairy cows.** *Reproduction*, Southampton, v. 123, p. 419-427, 2002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11882019/>. Acesso em: 25 out. 2023.

KRISHER, R. L. **The effect of oocyte quality on development.** *Journal Animal Science*, v. 82, p. 14-23, 2004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15471793/>. Acesso em: 25 out. 2023.

LÓPEZ-GATIUS F, SANTOLARIA P, YANIZ J, RUTLLANT J, LÓPEZ-BEJAR M. **Factors affecting pregnancy loss from gestation Day 38 to 90 in lactating dairy cows from a single herd.** *Theriogenology* 2002; 57:1251-1261. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12013445/>. Acesso em: 17 out. 2023.

MARCHEZAN WILIAN MIGUEL. **Estresse térmico em bovinos leiteiros.** Santa Maria, 2013. Disponível em: <https://repositorio.ufsm.br/handle/1/12457>. Acesso em: 06 out. 2023.

MELO, R. R. C.; FERREIRA, J. E.; SOUSA, S. L. G.; MELLO, M. R. B.; PALHANO, H. B. **Produção in vitro (PIV) de embriões em bovinos.** *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte-MG, v. 40, n. 2, p. 58-64, 2016. Disponível em: [http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v40/n2/p58-64%20\(RB602\).pdf](http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v40/n2/p58-64%20(RB602).pdf). Acesso em: 16 out. 2023.

MOREIRA, F.; RISCO, C.; PIRES, M.F. et al. **Effect of body condition on reproductive efficiency of lactating dairy cows receiving a timed insemination.** *Theriogenology*, v.53, p.1305-1319, 2000. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10832755/>. Acesso em: 17 out. 2023.

MORELLI PAULA. **Estresse térmico em vacas leiteiras.** Botucatu, SP: Campus de Botucatu, 2009. Disponível em: <chrome-extension://efaidnbnmnibpcajpcglclefindmkaj/https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/9cbe72ef-aec4-4efa-bf65-8265ac42221f/content>. Acesso em: 25 set. 2023.

MACHADO, G.M; CARVALHO, J.O; SIQUEIRA FILHO, E; CAIXETA, E.S; FRANCO, M.M; RUMPF, R; DODE, M.A.N. **Effect of Percoll volume, duration and force of centrifugation, on in vitro production and sex ratio of bovine embryos.**Theriogenology, v. 71, l. 8, p. 1289-1297, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.01.002>.. Acesso em: 07 Abr. 2021.

PEREIRA, L. C. et al. **Pregnancy and delivery rates after vitrification of in vitro-produced Nelore (Bos indicus) embryos under field conditions.** Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, v. 32, n. 1, p. 43-49, 27 mar. 2019. Universidad de Antioquia. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.17533/udea.rccp.v32n1a05>. Acesso em: 25 set. 2023.

PEIXOTO, M.G.C.D.; BERGMANN, J.A.G.; FONSECA, C.G.; PENNA, V.M.; PEREIRA, C.S. **Effects of environmental factors on multiple ovulation of zebu donors.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.58, p.567-574, 2006. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abmvz/a/3CLHxv4yNswHzTPqqGCkzBt/?lang=en>. Acesso em: 16 out. 2023.

ROTH Z, HANSEN PJ. **Disruption of nuclear maturation and rearrangement of cytoskeletal elements in bovine oocytes exposed to heat shock during maturation.** Reproduction, v.129, p.235-144, 2005. Disponível em: <https://rep.bioscientifica.com/view/journals/rep/129/2/1290235.xml>. Acesso em: 17 out. 2023.

ROCHA, D. R.; SALLES, M. G. F.; MOURA, A. A. A. N.; ARAUJO, A. A. **Impacto do estresse térmico na reprodução da fêmea bovina.** Belo Horizonte, 2012. Disponível em: <http://www.cbpa.org.br/>. Acesso em: 06 out. 2023.

SENEDA, M. M.; ESPER, C. R.; GARCIA, J. M.; ANDRADE, E. R. **Aspectos técnicos e biológicos da obtenção de oócitos bovinos:** revisão de literatura. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 23, n. 1, p. 101-110, 2002. Disponível em: [https://www.bvs-vet.org.br/vetindex/periodicos/semina-ciencias-agrarias/23-\(2002\)-1/aspectos-tecnicos-e-biologicos-da-obtencaode-oocitos-bovinos-revisao-d/](https://www.bvs-vet.org.br/vetindex/periodicos/semina-ciencias-agrarias/23-(2002)-1/aspectos-tecnicos-e-biologicos-da-obtencaode-oocitos-bovinos-revisao-d/). Acesso em: 15 out. 2023.

SILVA, R. G. **Introdução à bioclimatologia animal**. São Paulo: Ed. Nobel. 2000. 285 p. Disponível em: <https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/consulta/busca?b=ad&id=325461&biblioteca=vazio&busca=autoria:%22SILVA,%20R.%22&qFacets=autoria:%22SILVA,%20R.%22&sort=&paginacao=t&paginaAtual=3>.

SSTETOE, P. C.; EDWARDS, R. G. **Birth after the reimplantation of a human embryo**. *Lancet*, v. 2, p. 312-366, 1978. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/79723/>. Acesso em: 15 out. 2023.

ST PIERRE, N. R.; COBANOV, B.; SCHNITKEY, G. **Economic losses from heat stress by US livestock industries**. *Journal of Dairy Science*, Lancaster. v. 86, p. E52-E77, 2003. Disponível em: <https://experts.illinois.edu/en/publications/economic-losses-from-heat-stress-by-us-livestock-industriessup1su>. Acesso em: 15 out. 2023.

VELOSO NETO, H. F.; SILVA, J. C. F.; PEREIRA, L. C.; ANDRADE, J. C. O.; MOURA, M. T.; BARTOLOMEU, C. C; LIMA, P. F.; OLIVEIRA, M. A. L. **Parâmetros que afetam a taxa de prenhez de receptoras bovinas de embriões produzidos in vitro**. *Medicina Veterinária*, v. 8, n. 3, p. 31-35, 2014. Disponível em: <https://www.journals.ufrpe.br/index.php/medicinaveterinaria/article/view/1188>. Acesso em: 16 out. 2023.

VIANA, J. H. M.; FIGUEIREDO, A. C. S.; SIQUEIRA, L. G. B. **Brazilian embryo industry in context: pitfalls, lessons, and expectations for the future**. *Animal Reproduction*, v. 14, p. 476-481, 2017. Disponível em: [http://www.cbra.org.br/portal/downloads/publicacoes/animalreproduction/issues/download/v14/v14n3/p476-481%20\(AR989\)%20SBTE.pdf](http://www.cbra.org.br/portal/downloads/publicacoes/animalreproduction/issues/download/v14/v14n3/p476-481%20(AR989)%20SBTE.pdf). Acesso em: 15 out. 2023.

ZERON Y, OCHERETNY A, KEDAR O, BOROCHOV A, SKLAN D, ARAV A. **Seasonal changes in bovine fertility: relation to developmental competence of oocytes, membrane properties and fatty acid composition of follicles**. *Reproduction*, v. 121, p. 447-454, 2001. Disponível em:

<https://rep.bioscientifica.com/view/journals/rep/121/3/447.xml>. Acesso em: 25 out. 2023.