

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR PALOTINA
CURSO MEDICINA VETERINÁRIA

BRUNA CAROLINA DRUZIAN SALINAS

RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO
Área de reprodução de bovinos de corte

PALOTINA

2021

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR PALOTINA
CURSO MEDICINA VETERINÁRIA

RELATÓRIO
ATIVIDADES DO ESTÁGIO OBRIGATÓRIO
Área: Reprodução de bovinos de corte

Aluna: Bruna Carolina Druzian Salinas GRR 20161721
Orientador: Prof. Dr. Willian Gonçalves do Nascimento
Supervisor: Med. vet. Fábio Luiz Bim Cavalieri
Supervisor: Med vet. Lázaro Saldanha de Souza

Relatório apresentado como parte das exigências para a conclusão do Curso de Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal do Paraná.

PALOTINA - PR
Dezembro de 2021

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR PALOTINA
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO
ATIVIDADES DO ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO**

Área: Reprodução de bovinos de corte

Aluno: Bruna Carolina Druzian Salinas GRR: 20161721

Orientador: Willian Goncalves do Nascimento

Supervisores: Med. vet. Fábio Luiz Bim Cavaliere

Med vet. Lázaro Saldanha de Souza

O presente Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado e aprovado pela seguinte banca examinadora:

**Prof. Willian Gonçalves do Nascimento
Orientador**

**Prof. Nei Moreira
Departamento de Biociências – UFPR**

**Med Vet. Eduardo Michelin do Nascimento
Pós-graduando do PPGZ UFBA**

Palotina, 06, Dezembro de 2021

AGRADECIMENTOS

Agradecer a Deus, primeiramente, por ter iluminado e abençoado os dias de estágio, e agradecer mais ainda a Ele por ter colocado cada pessoa no meu caminho, no decorrer desses dias.

Agradecer aos meus pais, Sandro e Ana Paula, por se fazerem presentes e entusiasmados com cada aprendizado com eles partilhado, por terem dado todo o apoio e oportunidade de poder estagiar em outra cidade e confiarem em mim.

Agradecer as minhas avós que incansavelmente rezaram para que cada aprendizado fosse absorvido da melhor maneira, que todos os dias enviavam mensagem de apoio para nunca desistir dessa profissão tão bonita.

Agradecer aos meus irmãos que me apoiaram, me deram equilíbrio quando as coisas não estavam tão fáceis, e fizeram que dias de saudades se tornassem dias alegres.

Ao meu orientador Prof. Dr. Willian Gonçalves do Nascimento, que aceitou acompanhar essa jornada e com muita paciência respondeu e resolveu todas as dúvidas que surgiram nesse período.

Aos meus supervisores e médicos veterinários, Fábio Bim e Lázaro Saldanha que atenderam prontamente cada dúvida que surgia, que com paciência e dedicação passaram todo seu conhecimento e aprendizado.

As minhas amigas do grupo Ponta Porã MS, que me ajudaram em todos os anos da faculdade, dedico cada dia de estudo a todas elas, agradeço, pois sem elas a faculdade seria muito mais difícil.

RESUMO

Este trabalho tem como objetivo relatar as atividades realizadas e os conhecimentos adquiridos durante à disciplina de Estágio Supervisionado Obrigatório do curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Paraná – UFPR – Setor Palotina, totalizando 560 horas sob orientação do Prof. Dr. Willian Gonçalves do Nascimento. A primeira parte do estágio foi realizada na fazenda do Centro de Ensino Superior de Maringá – UNICESUMAR- localizada em Maringá- Pr, na área de reprodução bovina por produção *in vitro* de embriões (PIV), no período de 31 de maio a 20 de agosto de 2021, sob orientação do Médico Veterinário Fábio Luiz Bim Cavalieri. A segunda etapa foi realizada sob orientação do Médico Veterinário Lázaro Saldanha de Souza, acompanhando a rotina de veterinário autônomo na área de reprodução de bovinos por Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF), no período de 30 de agosto a 01 de outubro de 2021. Foram realizadas atividades em diferentes propriedades, acompanhando diagnósticos de gestação de animais submetidos a IATF e transferência de embrião em tempo fixo (TETF), escolha de receptoras, avaliação ginecológica de novilhas e protocolos reprodutivos. O presente relatório descreve o local de estágio, atividades realizadas neste período assim como, experiências técnicas e uso de biotecnologias aplicadas a reprodução de bovinos com o fim de melhorar e tecnificar a produção na bovinocultura de corte.

Palavras- chave: Inseminação artificial em tempo fixo; exame andrológico; protocolo hormonal; reprodução bovina.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – BLOCO DE BIOTECNOLOGIA COM SALAS DE AULA E LABORATÓRIOS.....	18
FIGURA 2 – ESTRUTURA FAZENDA UNICESUMAR	18
FIGURA 3 – COCHO DE CONCRETO E DOADORAS WAGYU.....	19
FIGURA 4 – POPULAÇÃO FOLICULAR OVARIANA	20
FIGURA 5 – MESA DE CAMPO PARA O DIA DA OPU	21
FIGURA 6 – LABORATÓRIO DE CAMPO OPU	22
FIGURA 7 – DOADORA SUBMETIDA A ASPIRAÇÃO FOLICULAR.....	23
FIGURA 8 – IMAGEM DE UM FOLÍCULO SENDO ASPIRADO COM AGULHA INTRODUZIDA(a) E AGULHA (b).....	23
FIGURA 9 – BLASTOCISTO, TAMANHO MÉDIO, BLASTOCELE (a) >50% DO EMBRIÃO (b)	26
FIGURA 10 – BLASTOCISTO EXPANDIDO, BLASTOCELE GRANDE (a), MASSA INTERNA (b) BEM DEFINIDA.....	27
FIGURA 11– MESA DIA DA INOVULAÇÃO DE EMBRIÕES.....	30
FIGURA 12 – ANIMAIS SENDO AVALIADOS EM GRUPO NO CURRAL.....	32
FIGURA 13– EXAME FÍSICO TESTÍCULO, EPIDIDÍMO E BOLSA ESCROTAL	33
FIGURA 14 – PALPAÇÃO RETAL PARA AVALIAÇÃO DE VESÍCULAS.....	34
FIGURA 15 – ANIMAL COM EXPOSIÇÃO DO PÊNIS APÓS ESTÍMULOS COM ELETROEJACULADOR.....	34
FIGURA 16 – EJACULADO BRANCO, AQUOSO E COM 8ML.....	35
FIGURA 17 – MESA PARA EXAME ANDROLÓGICO.....	36
FIGURA 18 – CICLO ESTRAL BOVINO	37
FIGURA 19 – CORPO LÚTEO(a) E FOLÍCULO(b) EM OVARIO DE NOVILHA NELORE	39
FIGURA 20 – MESA ORGANIZADA PARA A INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL	40
FIGURA 21 – MOMENTO DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL	41
FIGURA 22 – SEMEN DEPOSITADO APÓS ÚLTIMO ANEL CERVICAL	42

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 – MANEJO DAS RECEPTORAS	28
QUADRO 2 – PROTOCOLO RECEPTORAS	29
QUADRO 3 – MANEJO FÊMEAS PARA INICIAR PROTOCOLO IATF	40

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – TRATO DAS DOADORAS E RECEPTORAS DA FAZENDA	
UNICESUMAR	19
TABELA 2 – ATIVIDADES ACOMPANHADAS FAZENDA UNICESUMAR	30
TABELA 3 – ATIVIDADES ACOMPANHADAS ESTÁGIO 2	42

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

BE	Benzoato de estradiol
BL	Blastocisto
BSA	Soro sintético suplementado com albumina sérica
BX	Blastocisto expandido
CB 30	Cloreto de alquil dimetil benzil amônio
CE	Cipionato de estradiol
CIV	Cultivo <i>in vitro</i>
CL	Corpo lúteo
CO ₂	Gás carbônico
CT	Circunferência escrotal
D0	Dia em que inicia o protocolo
D8	Oitavo dia do protocolo de inseminação
D10	Dia da inseminação
D17	Dia da inovulação
DMPBS	“Dubelco’s modified phosphate buffered saline”
ECC	Escore de Condição Corporal
eCG	Gonadotrofina coriônica equina
FIV	Fertilização <i>in vitro</i>
FMVZ	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
FSH	Hormônio folículo estimulante
GNRH	Hormônio liberador de gonadotrofina
gr	Grama
IA	Inseminação artificial
IATF	Inseminação artificial em tempo fixo
kg	Quilograma
LAV	Meio de bancada
LH	Hormônio luteinizante
MIV	Maturação <i>in vitro</i>
mL	Milímetros
N ₂	Nitrogênio
O ₂	Oxigênio
PGF ₂ α	Prostaglandina

PIVE	Produção <i>in vitro</i> de embrião
P4	Progesterona
SOF	Synthetic oviductal fluid
TALP	Tyrode albuminalactato-piruvato
TCM	Tissue culture médium
TE	Transferência de embrião
TETF	Transferência de embrião em tempo fixo
OPU	<i>Ovum pick-up</i>
µl	Microlitro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	DESENVOLVIMENTO.....	17
2.1	UNICESUMAR.....	17
2.1.1	Doadoras	18
2.1.2	Aspiração folicular	20
2.1.3	Escolha das receptoras	21
2.1.4	Seleção de oócitos	24
2.1.5	Laboratório fiv	25
2.1.6	Escolha das receptoras.....	27
2.1.7	Protocolo de TETF.....	28
2.1.8	Inovulação.....	29
2.1.9	Atividades acompanhadas.....	30
2.2	MÉDICO VETERINÁRIO AUTÔNOMO	31
2.2.1	Exame Andrológico.....	31
2.2.1.1	Avaliação em grupo	31
2.2.1.2	Avaliação Individual.....	32
2.2.2	Inseminação Artificial em Tempo fixo.....	36
2.2.2.1	D0.....	38
2.2.2.2	D8.....	40
2.2.2.3	D10.....	40
2.2.3	Atividades acompanhadas.....	42
3	CONSIDERAÇÕES FINAIS	43
	REFERÊNCIAS	44

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, devido a crescente preocupação da melhor utilização de terras, a palavra produtividade tem sido muito empregada no agronegócio, não é diferente quando o olhar é voltado para a pecuária brasileira, onde a produtividade tem crescido em larga escala devido ao uso de biotecnologias, visando a produção de alimento de melhor qualidade para atender o crescimento da população. Inseminação artificial em tempo fixo (IATF), transferências de embriões (TE) e produção *in vitro* de embriões (PIVE) são as biotécnicas utilizadas para maximizar e potencializar a eficiência reprodutiva, melhores indicadores de produtividade, bem como produção de animais melhores geneticamente (BURATINI Jr., 2006).

Segundo estudos realizados pelo Departamento de Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ/USP) no ano de 2020 verificou-se um crescimento de 29,7% em relação ao ano anterior de fêmeas bovinas inseminadas e este número está em constante avanço, pois somente 22,2% do rebanho nacional de fêmeas bovinas de corte em idade reprodutiva foram inseminadas em 2020, cerca de 11.658.369 matrizes (NERY et al, 2020). Esta biotecnologia tem ganhado espaço no mercado com o intuito de melhorar o rebanho geneticamente e além disso, otimizar a eficiência reprodutiva do rebanho comercial (BARUSELLI et al., 2019).

Juntamente ao crescimento da Inseminação Artificial (IA), a tecnologia da Inseminação Artificial em Tempo fixo (IATF) tem acompanhado essa expansão, de acordo com BARUSELLI (2021) em 2020, das fêmeas bovinas inseminadas neste ano, 90% delas foram realizadas com a tecnologia da IATF.

A IATF tem como vantagem a organização da estação de monta, devido a concentração de animais induzidos ao cio no mesmo período, além de otimizar o manejo do rebanho (BARUSELLI et al., 2018).

Uma outra biotecnologia que vem crescendo nos últimos anos, é o uso da ultrassonografia para guiar a aspiração folicular transvaginal, é uma técnica escolhida para obter oócitos viáveis de doadoras bovinas, esta técnica é denominada OPU (*Ovum pick up*) após a OPU é realizada a produção de embriões *in vitro* (PIVE), onde este embrião será inovulado em uma receptora após 7 dias de maturação em laboratório (OLIVEIRA et. al., 2014).

Em 2012, o Brasil apresentava 33,9% da produção de embriões *in vitro* (PIVE) mundial, e ainda permanece em constante crescimento devido a técnica apresentar múltiplos embriões oriundos de fêmeas de alto valor genético (VIANA et. al, 2017).

O presente trabalho tem como objetivo relatar as atividades realizadas no decorrer do Estágio Supervisionado Obrigatório do curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina, na área de reprodução de bovinos de corte.

2

2 DESENVOLVIMENTO

O estágio foi realizado em duas partes, perfazendo o total de 560 horas. A primeira na fazenda Escola da UNICESUMAR, em Maringá- Pr com duração de 82 dias, totalizando 360 horas. A segunda parte do estágio foi realizada com atividades a campo e acompanhamento da rotina de veterinário autônomo em diferentes propriedades na região de Ponta Porã-MS, com duração de 33 dias totalizando, totalizando 300 horas.

2.1 UNICESUMAR

O estágio foi realizado na fazenda escola do Centro de Ensino Superior de Maringá – Unicesumar- (FIGURA 1), localizada na estrada da Morangueira lote 31/35, Maringá, estado do Paraná no período de 31 de maio até 20 de agosto de 2021.

A fazenda da Unicesumar conta com uma área de 425,92 hectares e uma ampla estrutura de ensino teórico e prático, contendo laboratório de FIV (fertilização *in vitro*), tronco de contenção para bovinos e laboratórios voltados a biotecnologia. Possui cerca de 500 animais, que parte são vacas leiteiras, que estão em lactação e parte animais destinadas a receptoras de embriões e cerca de 30 doadoras da raça Wagyu.

FIGURA 1 – BLOCO DE BIOTECNOLOGIA COM SALAS DE AULA E LABORATÓRIOS



FONTE: Arquivo pessoal (2021).

FIGURA 2 – ESTRUTURA FAZENDA ESCOLA UNICESUMAR



FONTE: www.unicesumar.edu.br/nta/institucional

2.1.1 Doadoras

Na fazenda Unicesumar, as doadoras de oócitos eram da raça Wagyu, de um modo geral elas deveriam se apresentar em um bom escore corporal, e segundo Seneda et. al. (2005) as fêmeas podem ser submetidas a OPU a partir de seis meses de vida até o primeiro terço de gestação ou até o momento em que o médico veterinário consiga manipular o ovário a ponto de realizar a aspiração folicular.

Havia cerca de 40 doadoras, alocadas em piquetes com nutrição balanceada. A silagem fornecida era plantada e ensilada dentro da própria fazenda, assim como a ração, que também era produzida pelos colaboradores da universidade, o sal mineral era comprado, o produto era produzido com elementos que auxiliavam no desenvolvimento reprodutivo. A alimentação era fornecida em cocho de concreto (FIGURA 3), com 40 cm linear por animal, e o sal mineral era fornecido *ad libitum* em um outro cocho específico para o sal mineral, o trato era realizado duas vezes ao dia nas quantidades descritas na tabela 1.

TABELA 1 – Alimentação das doadoras e receptoras da Fazenda Unicesumar

Alimentos	kg por Animal/ trato
Silagem de milho	18-20
Concentrado	0,480
Sal mineral Reprodução	<i>ad libitum</i>

FONTE: A autora (2021).

FIGURA 3- COCHO DE CONCRETO E DOADORAS WAGYU



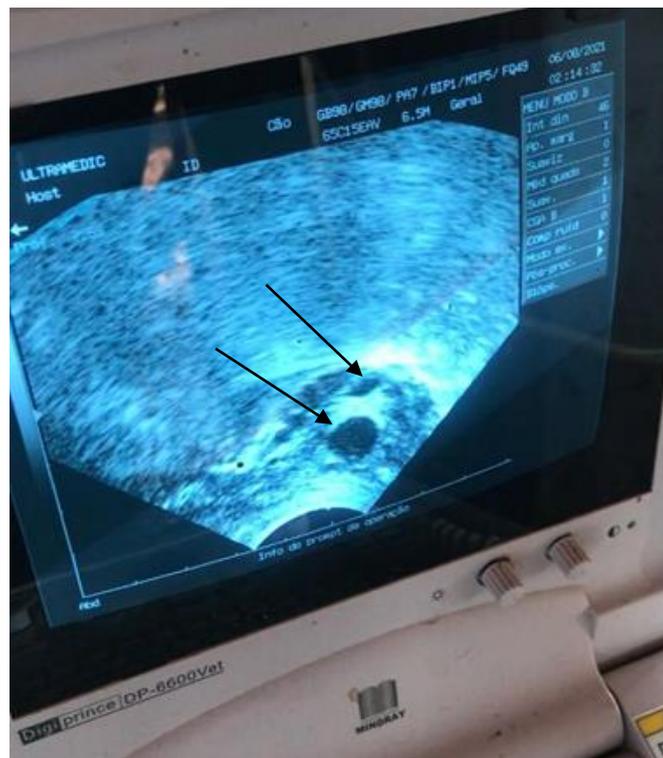
FONTE: Arquivo pessoal (2021)

Segundo Santos e Sá Filho (2006) a correta ingestão de nutrientes em bovinos reflete em bom desempenho reprodutivo dos mesmos. Quanto mais bem nutrido, tanto o estado nutricional quanto o metabólico iram refletir nos parâmetros endócrinos, padrões de crescimento folicular e na atividade do corpo lúteo.

No dia da OPU (*Ovum pick up*), as fêmeas eram avaliadas, primeiramente em escore, ou seja, a fêmea só era aspirada quando estava em um bom estado corporal. Em seguida, caso a fêmea fosse muito jovem, o segundo fator importante era se a

probe transvaginal passaria pelo canal vaginal, caso a doadora já havia passado pela aspiração em outro momento, esse passo era pulado e iria direto para a avaliação ovariana, onde era observado a população folicular dos ovários, onde as setas na FIGURA 4 mostram os folículos presentes nesse corte do ovário.

FIGURA 4- POPULAÇÃO FOLICULAR OVÁRIANA



Fonte: Arquivo pessoal (2021)

2.1.2 Aspiração folicular

Na FIGURA 5 está apresentado a mesa montada para realizar a aspiração folicular, ou OPU, contendo um aparelho de ultrassonografia, uma *probe* transvaginal, um aquecedor de bolso para tubos, uma bomba de vácuo ajustada a 115mmHg, agulhas, seringas, tubos do tipo *falcon* de 50mL, gel condutor para ultrassom, camisinha para *probe* transvaginal, anestésico local (lidocaína), luvas de procedimento, luvas de palpação, sistema para aspiração folicular com rolha plástica e guia de aspiração folicular.

FIGURA 5- MESA DE CAMPO NO DIA DA ASPIRAÇÃO FOLICULAR



Fonte: Arquivo pessoal (2021)

2.1.3 Escolhas das doadoras

Antes de iniciar o processo de escolha das doadoras, os responsáveis organizavam a mesa de aspiração folicular a campo (FIGURA 5) e o laboratório a campo (FIGURA 6). Previamente a organização do laboratório o equipamento de banho Maria era ligado a 38°C e colocava a solução LAV composta por DMPBS heparinizado, este permanecia resfriado até a sua utilização. O laboratório era montado em uma sala limpa, com pouco acesso a luz, fazia parte do laboratório: lupa, pipetas e micro pipetas, placas de *petri*, mesa aquecedora, cilindro, tubos do tipo *falcon* de 50mL, meio MIV, filtros, seringas de 20 mL, tubo criogênico e transportador de oócitos.

FIGURA 6- LABORATÓRIO DE CAMPO ASPIRAÇÃO FOLICULAR



Fonte: Arquivo pessoal (2021).

Com a doadora bem contida no tronco de contenção, era realizada a anestesia epidural baixa em que era depositado 5mL de Lidocaína 2%, e aguardava até que a fêmea perdia o movimento da cauda. Enquanto a anestesia fazia efeito, a *probe* transvaginal era preparada com camisinha descartável e com gel condutor de ultrassom, além da *probe*, a guia de aspiração folicular era preparada com agulha para perfuração dos folículos e também conectado ao sistema de aspiração folicular com rolha plástica que era acoplada a um tubo tipo *falcon* de 50mL.

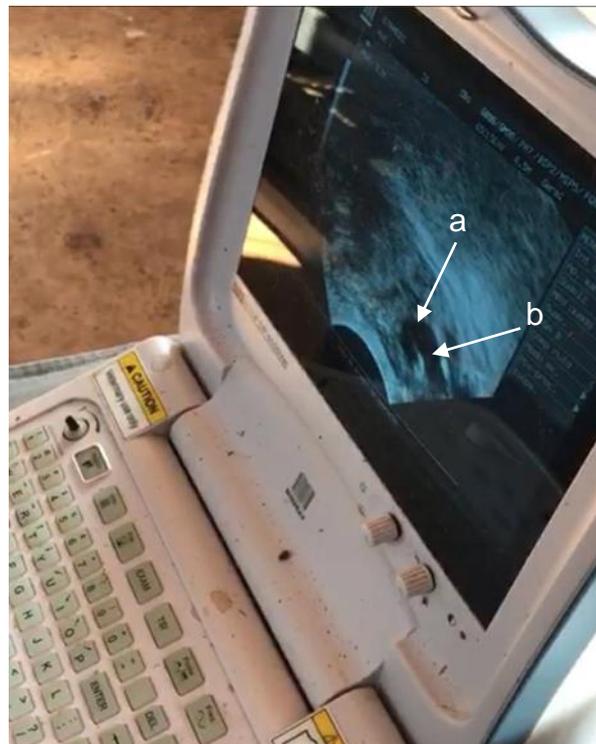
Na FIGURA 7, a fêmea está contida e com a anestesia epidural baixa e com a *probe* transvaginal já com o guia acoplado ao sistema de vácuo. Juntamente a introdução da *probe* transvaginal, é realizado a palpação retal, em que o responsável pela aspiração posiciona o ovário por via retal a ser aspirado em frente a *probe* micro convexa, formando a imagem do ovário na tela do ultrassom, com o folículo (a) com a agulha introduzida (b) aspirando-o (FIGURA 8).

FIGURA 7- INTRODUÇÃO DA PROBE TRANSVAGINAL E PALPAÇÃO RETAL



Fonte: Arquivo pessoal (2021).

FIGURA 8 – IMAGEM DE UM FOLÍCULO SENDO ASPIRADO COM AGULHA INTRODUIDA.(a) PONTOS ANEKOICOS E (b) AGULHA.



Fonte: Arquivo pessoal (2021)

Com a *probe* posicionada no fundo do saco vaginal, e o ovário posicionado via retal frente a *probe*, a bomba de vácuo é ligada e com movimentos de tirar e introduzir a guia, os folículos eram aspirados e despejados no tubo tipo *falcon*. Os pontos anecoicos que aparecem na imagem do ultrassom (Figura 8a) são os folículos, esses são aspirados até que não tenha mais esse ponto. Assim que o primeiro ovário é finalizado, o outro ovário é posicionado na *probe* e é feito o mesmo processo. Ao finalizar os dois ovários, a *probe* é retirada e, com a ajuda de um auxiliar, é realizada a limpeza do sistema com DMPBS (Dubelco's modified phosphate buffered saline) aquecido a 38°C, cerca de 2 mL da solução é sugada para o tubo tipo *falcon*. Este tubo com a solução LAV + DMPBS + oócitos e sangue é levado até o laboratório de campo (FIGURA 6) onde o selecionador seleciona os oócitos viáveis para levar a *FIV*.

2.1.4 Seleção de oócitos

O tubo com o conteúdo com os oócitos eram entregues para o selecionador e este conteúdo era despejado em um filtro coletor de *FIV* onde era lavado com a solução DMPBS até que a maior parte do sangue fosse filtrada, restando apenas oócitos. Este líquido mais transparente era passado para uma placa de *petri* e era posicionada em uma lupa.

Em movimento circulares, os oócitos se acomodavam no centro da placa e o selecionador conseguia ver os oócitos que foram aspirados todos juntos. Em uma outra placa eram feitas três gotas do meio de bancada (LAV) que continha soro fetal bovino, heparina e solução fosfatada tamponada (DMPBS), cada gota de LAV era para selecionar e lavar os oócitos, ou seja, com o auxílio de uma micropipeta, na primeira gota eram depositados todos os oócitos encontrados na placa nesta gota, na segunda gota os melhores oócitos grau I e II era alocados e na terceira gota os oócitos já selecionados que seriam contados e anotados eram ali depositados, seguindo a metodologia de Gonçalves et. al. (2002). Com cautela, e com a micropipeta a terceira gota era colocada em um tubo criogênico que continha MIV (maturação *in vitro*) e após

isso era submetida a 30 segundos de gás (composto por 90% N₂, 5% O₂ e 5% de CO₂), com o objetivo de mimetizar uma atmosfera ideal para maturação destes oócitos. Este tubo era lacrado com parafina, colocado em um transportador de oócitos, que mantinha os oócitos a 38°C e levado juntamente com o documento de identificação das doadoras, número de oócitos aspirados e de oócitos viáveis e inviáveis até o laboratório e entregues para o responsável pelo laboratório de *FIV*.

Laboratório *FIV*

As etapas laboratoriais não podiam ser acompanhadas por outras pessoas, os oócitos eram manipulados e acompanhados somente pelo responsável de laboratório, por questões de biossegurança, e esses embriões eram vendidos, ou seja, se houvesse alguma contaminação externa, teria prejuízo econômico para a responsável, mas será descrito sucintamente como é feita a fertilização e o envase dos embriões.

De acordo com Varago et al (2008), a produção de um embrião passa por três fases, são elas: Maturação *in vitro* (MIV), Fecundação dos oócitos *in vitro* (FIV), Cultivo do embrião *in vitro* (CIV).

A etapa de MIV, dura 24 horas, onde os oócitos selecionados passam por maturação nuclear, maturação citoplasmática além de outras alterações do oócito. Grande parte dos laboratórios utilizam o TCM (*Tissue Culture Medium*) como meio, pode ser adicionados: piruvato, lactato, aminoácidos, bicarbonato de sódio, vitaminas, entre outras substâncias, geralmente nas concentrações encontradas no soro sanguíneo, e isso varia de acordo com cada laboratório. Importante ressaltar que há também a suplementação hormonal de LH e FSH, soro fetal e albumina sérica e ainda, alguns laboratórios adicionam estrógeno nesse meio (VARAGO et. al., 2008).

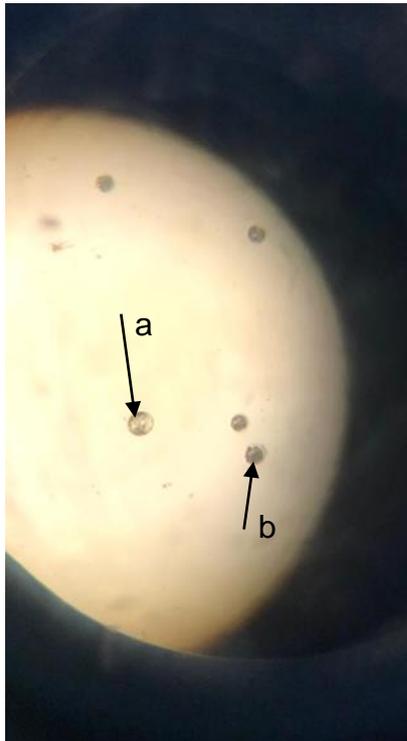
Após 24 horas, a etapa MIV é deixada para trás e a próxima etapa que esses oócitos, agora maduros, passarão pela FIV. Nesta etapa, é o momento em que os oócitos serão fecundados por espermatozoides, estes passarão por uma capacitação, assim como ocorre *in vivo*, em que proteínas e outras substâncias que recobrem a membrana do espermatozoide são removidas além de várias outras alterações bioquímicas. A dose de sêmen, que no laboratório era congelada, passa pelo descongelamento, após isso passa pela centrifugação com gradiente de *Percoll* (GALLI e LAZZARI, 1996), e a porção viável é incubada a 38°C juntamente com os

oócitos viáveis, no meio TALP (*Tyrode-albuminalactato-piruvato*), com ph de 7,8 por 6 a 24 horas, isso varia de laboratório para laboratório (VARAGO et. al., 2008).

Após a FIV, vem a etapa CIV, a maioria dos laboratórios utilizam o meio SOF (*Synthetic Oviductal Fluid*) com baixa ou nenhuma quantidade de soro fetal bovino, com redução da % de O₂ caindo para 5%, o que diminui a produção de radicais livres e melhora o desenvolvimento do embrião (PEIXER et. al., 2018). E, atualmente é utilizado como fonte proteica para os embriões em CIV, o BSA, que é o soro sintético suplementado com albumina sérica bovina (STROEBECH et al., 2015), e neste meio eles permanecem até o 7^o dia a temperatura de 38^oC sob luz reduzida, onde serão envasados e levados até o curral para a inoculação.

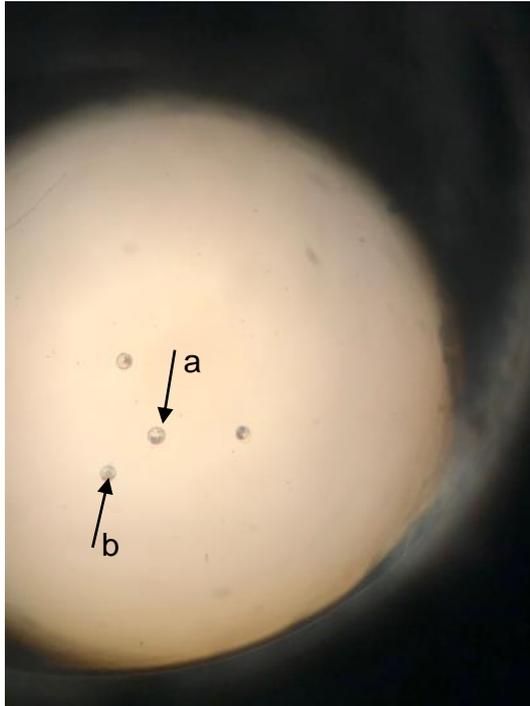
O responsável pelo laboratório, antes de envasar os embriões, classifica os embriões em BI (FIGURA 9) e BX (FIGURA 10), esses eram envasados e nomeados de acordo com a sua classificação.

FIGURA 9 – VISUALIZAÇÃO DE BLASTOCISTO, TAMANHO MÉDIO, BLASTOCELE (a) >50% DO EMBRIÃO (b) EM MICROSCÓPIO



Fonte: Arquivo pessoal (2021)

FIGURA 10 - VISUALIZAÇÃO DE BLASTOCISTO EXPANDIDO, BLASTOCELE GRANDE(a), MASSA INTERNA (b) BEM DEFINIDA EM MICROSCÓPIO



Fonte: Arquivo pessoal (2021)

Escolha das receptoras

A receptora tem um papel muito importante na transferência de embrião, elas que irão gerar o produto de alta qualidade e genética, portanto, o bem-estar animal, uma boa nutrição e manejo sanitário devem estar presentes no manejo das receptoras (HONORATO et. al., 2013).

As receptoras utilizadas na fazenda eram compradas, sem raça definida, havia um responsável pela compra destas fêmeas, em que no dia da compra era avaliado: escore de condição corporal (ECC) e idade da futura receptora, preconizando-se a escolha de novilhas, com escore de condição corporal 3, da escala de 1 a 5, que seria um escore médio a ideal segundo Machado et. al. (2008).

Essas fêmeas eram alocadas em piquetes sobre sistema de semi confinamento, e assim como as doadoras, era ofertado silagem de milho e concentrado em cocho de concreto e com a mesma quantidade ofertadas para as doadoras (TABELA 1), sal mineral reprodução *ad libitum* separado dos outros alimentos e água limpa e fresca em bebedouros de concreto.

Antes de iniciar o protocolo com as receptoras era feito exame ginecológico das mesmas, com os seguintes passos como mostrado no QUADRO 1, a partir da entrada das fêmeas no tronco de contenção:

- i. Pesagem: animais com menos de 350 kg não eram submetidas ao protocolo de transferência;
- ii. Identificação: acima de 350 kg, os animais eram identificados com bottons eletrônicos juntamente com brinco com um número para a identificação;
- iii. Avaliação ginecológica: era dividida em dois pontos principais, primeiramente era avaliado tamanho de útero e em seguida avaliação ovariana.

QUADRO 1 – MANEJO DAS RECEPTORAS

Critério Avaliado	Resultado	Entrada Protocolo	Destino
Pesagem	<350kg >350 kg	Não	Piquete para engordar
		Sim	Piquete Receptoras
Tamanho de Útero	Pequeno Ideal	Não	Piquete para engordar
		Sim	Piquete Receptoras
Avaliação Ovariana	Ausência de CL Presença de CL	Não	Piquete para engordar
		Sim	Piquete Receptoras

FONTE: A autora (2021).

Protocolo de TETF

As fêmeas aprovadas na avaliação ginecológica eram submetidas ao protocolo hormonal, todos os animais eram protocolados no mesmo dia para ser feita a transferência de embrião em tempo fixo.

No dia da avaliação, já era iniciado o protocolo das novilhas como mostra o QUADRO 2, este se chamava D0, em que a fêmea recebia o implante de progesterona intrauterino e era administrado Benzoato de estradiol, permanecendo com este por 8 dias, no oitavo dia ou D8, além da retirada do implante, a novilha recebia uma aplicação de Prostaglandina, Cipionato de Estradiol e eCG (gonadotrofina coriônica equina). E após 17 dias de colocado o implante, as novilhas eram inovuladas com os embriões, este dia era chamado D17.

QUADRO 2 – PROTOCOLO RECEPTORAS

Dia	Hormônios	Dosagem	Obs
D0	Implante Progesterona	0,5 g	
	Benzoato de Estradiol	1mg/ml, Ferticare Sincronização® (via Intramuscular) 2,0 mL	
D8	Retirada Implante	-	
	Cipionato de Estradiol	0,5mg/ml, Ferticare Ovulação® (via intramuscular) 1,0 mL	
	Prostaglandina (Cloprostenol)	0,530mg/ 2000ml, Ciosin® (via intramuscular) 1,5 mL	
	eCG	5000 UI/1000ml Folligon® (via intramuscular) 1,5 mL	
D10	-		CIO
D17	-		INOVULACAO

FONTE: A autora (2021).

Inovulação

No D17, todas as novilhas submetidas ao protocolo eram levadas até o curral onde era organizado pelo responsável a mesa do D 17 (FIGURA 11) e era feita outra avaliação, esta em relação ao tamanho de corpo lúteo.

O corpo lúteo (CL) era classificado, em 1, 2 ou 3, sendo que 1 seria o menor tamanho e 3 o maior, além da classificação do tamanho também era descrito o lado em que o corpo lúteo estaria presente, ovário direito ou esquerdo.

As fêmeas que eram inovuladas, eram as fêmeas que tinham corpo lúteo classificado em 2 ou 3, só seriam inovuladas as de classificação 1, se caso não tivessem animais suficientes para o número de embriões.

Após classificado o CL e discriminado qual lado ele estava presente, o embrião era retirado do transportador de embriões, no qual o embrião era mantido a 38^o C, era cortado o lacre, sempre com muita cautela para não contaminar o embrião, e colocado em uma bainha de inovulação e após isso alocado em uma camisinha sanitária.

Com o inovulador e o embrião pronto, o responsável pela transferência, fazia aplicação de 5 mL de lidocaína no espaço sacrococcígeo, como uma epidural baixa, e realizava uma limpeza perineal. O inovulador era posicionado na entrada da cérvix

e com a outra mão, via retal, o responsável manipulava a cérvix até que o inovulador passava seus anéis e era guiado em direção ao corno ipsilateral ao corpo lúteo e ali o embrião era depositado.

Após o processo de inovulação, as fêmeas voltavam para o piquete, com a mesma alimentação, e voltavam para o curral após 23 dias de inovuladas para o diagnóstico de gestação.

FIGURA 11 – MESA DIA DA INOVULAÇÃO DE EMBRIÕES



Fonte: Arquivo pessoal (2021)

O diagnóstico era feito no 23^o dia após a inovulação, levando-se em consideração que o embrião estaria no 30^o dia de vida. A média dos diagnósticos de gestação estava de acordo com SCAVANEZ et. al. (2013), que citaram índices de até 50% de prenhez no dia do diagnóstico.

Atividades acompanhadas

Algumas atividades da TABELA 2, foram somente acompanhadas, ou seja, assistidas enquanto o supervisor realizava a atividade, outras, o supervisor autorizava que a autora realizasse o estágio, mas em ambas as formas o ensinamento e aprendizado foi de excelência.

TABELA 2 – ATIVIDADES ACOMPANHADAS FAZENDA UNICESUMAR

Atividades	Acompanhadas
Protocolo TETF	320
Aspiração folicular	210
Seleção de oócitos	210
Inseminação Artificial	57
Protocolo nascimento Wagyu	17
Retenção de placenta	1
Exame Andrológico	1

FONTE: A autora (2021).

2.2 MÉDICO VETERINÁRIO AUTÔNOMO

O estágio foi realizado em oito fazendas diferentes, em propriedades localizadas ao redor de Ponta Porã- MS, no período de 30 de agosto até 01 de outubro de 2021.

Neste período, as atividades realizadas foram acompanhadas pelo Médico Veterinário Lázaro Saldanha de Souza, formado pela Universidade Federal do Mato Grosso do Sul - UFMS na turma de 1995 e atua como Médico Veterinário autônomo na área de reprodução de bovinos de corte.

2.2.1 Exame Andrológico

O Exame andrológico era dividido em duas partes: Avaliação em grupo e Avaliação individual.

2.2.1.1 Avaliação em grupo

Os touros eram colocados todos juntos em uma parte do curral, em que era feita uma avaliação geral dos animais (FIGURA 12).

Os animais que tinham defeitos, eram descartados e não eram submetidos a avaliação individual.

FIGURA 12 - ANIMAIS SENDO AVALIADOS EM GRUPO NO CURRAL



Fonte: Arquivo pessoal (2021)

Os defeitos avaliados eram: problemas de aprumo, problemas de casco, animal que estaria com algum membro fraturado, animal com idade avançada, alguma queixa que um colaborador mencionava, animais que apresentavam alguma deformidade, entre outros.

Estes animais que não passavam na avaliação em grupo, eram marcados e separados do lote, seus números eram anotados para repassar os descartes para o proprietário.

2.2.1.2 Avaliação Individual

Os touros aprovados na avaliação em grupo, eram apartados e avaliados individualmente no tronco de contenção para realização do exame físico dos testículos, epidídimo, bolsa escrotal, avaliação de prepúcio e pênis e a avaliação das glândulas vesiculares e próstata (estas duas últimas via palpação retal).

- i. Testículos: eram avaliados quanto a sua circunferência, esta era anotada em planilha. De acordo com Silva et. al. (2002), perímetro escrotal (PE) está correlacionada positivamente a motilidade espermática do sêmen, em animais de até 18 meses. Além da PE, era feita um exame clínico dos testículos, avaliando simetria, consistência, formato e a temperatura dos mesmos.

- ii. Epidídimo: avaliado conforme quão repleto estava a cabeça do epidídimo e também se havia algum nódulo ou estrutura anormal de sua cauda (FIGURA 13). Quanto ao grau de quão repleto estaria a cabeça do epidídimo, era feito uma escala de 1 a 3, em que 1 era pouco repleto, 2 pouco cheio com consistência macia e 3 bem repleto. Ambos epidídimos eram examinados e anotados de acordo com a escala e era colocado em observações se havia alguma estrutura anormal no corpo do epidídimo.

FIGURA 13 - EXAME FÍSICO TESTÍCULO, EPIDIDÍMO E BOLSA ESCROTAL



Fonte: Arquivo pessoal (2021)

- iii. Bolsa escrotal: avaliado quanto a temperatura da mesma, se havia alguma alteração em relação a machucados, presença de ectoparasitas e quão móvel estaria o testículo dentro da bolsa.
- iv. Vesícula seminal e próstata: ambas eram avaliadas por palpação retal (FIGURA 14) e a alteração era em relação ao tamanho, simetria, se havia fibrose e também a presença de sensibilidade a palpação das mesmas. Com uma breve massagem da próstata, era iniciado um breve estímulo para otimizar a coleta do ejaculado.

FIGURA 14- PALPAÇÃO RETAL PARA AVALIAÇÃO DE VESÍCULAS E PRÓSTATA



Fonte: Arquivo pessoal (2021)

Após a avaliação física dos órgãos reprodutivos internos e externos do touro, era introduzido o eletro ejaculador via retal no animal e era estimulado em ondas de choque, primeiramente era estimulado em baixa frequência de choque, para que fosse avaliado a exposição do pênis (FIGURA 15), a presença de machucados e o aspecto do mesmo. Após avaliado o pênis, os estímulos eram aumentados até que o animal ejaculasse.

FIGURA 15- ANIMAL COM EXPOSIÇÃO DO PÊNIS APÓS ESTÍMULOS COM ELETROEJACULADOR



Fonte: Arquivo pessoal (2021)

Com o ejaculado coletado, eram preenchido as informações sobre ele, como coloração, aspecto e quantidade (FIGURA 16), quanto ao aspecto era classificado em: aquoso, leitoso e cremoso. Quanto a coloração era classificada em: branco, amarelo ou transparente.

FIGURA 16 – ASPECTO DO EJACULADO COLETADO (BRANCO, AQUOSO E COM 8ML)



Fonte: Arquivo pessoal (2021)

Logo que era feita as anotações sobre os aspectos macroscópicos do ejaculado, o sêmen era avaliado microscopicamente, onde o microscópio, pipetas, lâmina e lamínulas eram organizadas previamente ao início do exame (FIGURA 17).

Com o auxílio de uma micropipeta, 10 μ l de sêmen era coletado do tubo tipo *falcon* de 15mL e aplicado sobre uma lâmina, sobre a gota com a objetiva de 10x do microscópio era avaliado primeiramente o Turbilhonamento, este fator é quem mede a intensidade da movimentação da onda dos espermatozoides na lâmina. O turbilhonamento é classificado na escala de 0 a 5, em que 0 é pouco ou nenhuma movimentação e 5 muita movimentação (BARBOSA et.al., 2005).

Sob esta mesma gota, é posicionada uma lamínula, e com a objetiva de 40x do microscópio foram avaliados o vigor e a motilidade. A motilidade é a quantidade de espermatozoides vivos na lâmina, a classificação é dada em porcentagem, ou seja, motilidade 80% era quando 80% dos espermatozoides estavam vivos nessa amostra.

O vigor é a avaliação individual do espermatozoide viável, é a intensidade em que ele se movimenta individualmente, assim como o turbilhonamento, a escala de

classificação varia de 0 a 5, em que 0 está ausente a movimentação individual e 5 altamente com movimentação (BARBOSA et. al., 2005).

FIGURA 17- MESA PREPARADA PARA O EXAME ANDROLÓGICO



Fonte: Arquivo pessoal (2021)

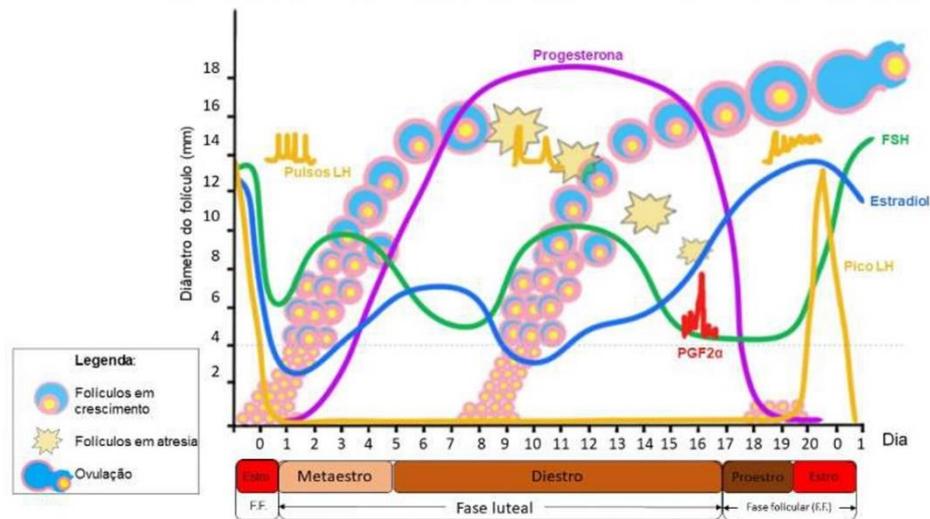
Para os resultados da avaliação do ejaculado, aqueles que apresentavam poucos espermatozoides vivos ou nenhum, era feita a recoleta do ejaculado e avaliado novamente, se caso permanecesse o mesmo vigor e/ou motilidade, este touro era descartado. Touros com motilidade abaixo de 50% passavam pelo mesmo processo de recoleta, se permanecesse o valor, era descartado também, assim como vigor de 0 ou 1.

Os touros com motilidade acima de 55% e vigor maior ou igual a 3 eram aprovados no exame andrológico, diante disso, seu sangue era coletado via veia caudal e enviado a um médico veterinário habilitado para realizar o exame de Brucelose, caso resultado positivo, o touro era descartado imediatamente, caso contrário o touro estaria apto para trabalhar novamente com as vacas.

2.2.2 Inseminação Artificial em Tempo fixo

O protocolo de IATF, é a manipulação de hormônios com objetivo de mimetizar o ciclo estral da vaca (FIGURA 18), para que todos ou a maioria dos animais protocolados, entrem em cio em um mesmo tempo para que facilite o manejo para inseminar grandes quantidades de animais ao mesmo tempo.

FIGURA 18- CICLO ESTRAL BOVINO



Fonte: MONGELLI, M. S.; TAVARES, I. C.; FERRANTE, M. (2021)

No protocolo que foi utilizado pelo veterinário responsável, no D0 era realizado o uso de P4 e BE, o uso do BE associado a P4 faz com que haja uma sincronização da emergência da onda folicular, enquanto P4 liberado de forma lenta mimetiza o CL, inibe a ovulação e gera uma queda de LH, o BE, que possui meia vida de três dias, promove a supressão de FSH e faz com que não haja crescimento folicular. Com o uso de CE associado a retirada do implante induzindo o pico de GnRh e LH, gera o crescimento folicular de um folículo dominante, e ainda, a administração de eCG que, mimetizando o FSH e LH, fazem com que tenha uma otimização de crescimento de um folículo dominante e maturação do mesmo. E é feito PGF2 α para luteólise caso tenha algum corpo lúteo remanescente de ondas anteriores (MONGELLI et. al. 2021)

Os protocolos de IATF utilizados tem o objetivo de induzir uma nova onda de crescimento folicular, além disso controla a duração do crescimento dessa onda chegando em um estágio de pré ovulação e após isso, induz a ovulação, que é o momento que será feito a inseminação (OLIVEIRA, et. al. 2011).

O ano de 2021, diferentemente de outros anos em que iniciava as chuvas em setembro, na região do Mato Grosso do Sul e, após as chuvas de setembro, era iniciado os protocolos de IATF, neste ano os protocolos iniciaram atrasados, logo, não foi acompanhado grandes números de IATF na região. De acordo com Diegues (2021), o mais indicado neste período de secas para as fases de cria seria o uso de suplementação proteica, em que pode permitir que tenha um ganho de peso das

vacas, mas o autor garante que pelo menos os pesos se mantem durante a estação da seca.

Nas fazendas acompanhadas, alguns produtores utilizaram sal mineral proteico em que era fornecido de 100 a 120 gr para cada 100 kg de peso vivo no cocho. A dieta era baseada a pasto, como se tratava de período das secas, os animais estavam em piquete em que previamente os colaboradores haviam feito o diferimento das pastagens para que tivesse matéria seca para os animais no período seco.

Com o uso da IATF, está biotecnologia na reprodução de bovinos é marcado pela concentração de animais manejados ao mesmo tempo e aliada a implementação de genética de qualidade e superior no rebanho, facilitando e otimizando a mão de obra na atividade.

Com o uso do protocolo hormonal utilizado, as vacas que estão no rebanho em anestro, e até mesmo vacas paridas com bezerros de 30 dias de vida, prontamente podem entrar no protocolo fazendo com que o ciclo reprodutivo das fêmeas seja otimizado (SOUZA, 2017).

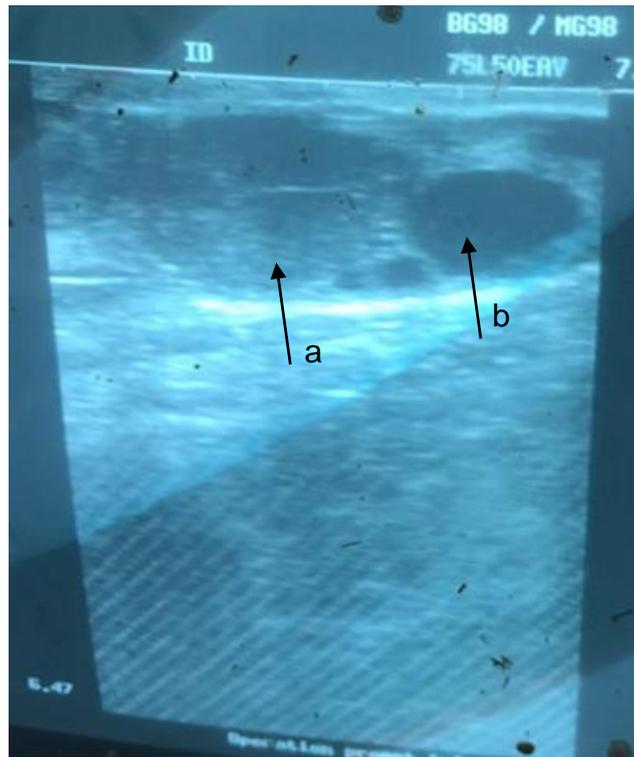
O protocolo que foi utilizado nas fazendas acompanhadas foi o de três manejos, que é baseado em: D0- utilização de 2mL de BE e implantação do dispositivo de progesterona intrauterino; D8: retirada do implante e aplicação de 1,0mL de CE + 1,5mL eCG + 1,5mL de prostaglandina; D10 inseminação artificial.

2.2.2.1 D0

Previamente ao início do D0, foram feitas avaliações ginecológicas nas vacas, se caso fosse recém paridas, essa avaliação era voltada em relação a limpeza do útero e a avaliação ovariana para saber se a fêmea já havia ou não entrado em cio.

Como são animais que já passam pelo protocolo de IATF há muitas temporadas, todas as vacas com 30 dias de puerpério já tinham CL em um dos seus ovários. Quando a fêmea era da categoria novilha, a avaliação era voltada para: se estava ou não prenhe, tamanho de útero, se havia CL em um dos ovários juntamente com o folículo (FIGURA 19).

FIGURA 19- CORPO LÚTEO(a) E FOLÍCULO(b) EM OVARIO DE NOVILHA NELORE



Fonte: Arquivo pessoal (2021)

A fêmeas aptas a iniciar o protocolo de IATF, assim que feito as avaliações resumidas no Quadro 3, eram implantadas com o dispositivo intrauterino de progesterona. O primeiro passo era fazer a lavagem da região perineal da fêmea, com água e CB30, até retirada de todas as sujidades ao redor da vulva. Com uma das mãos fazia a abertura da vulva e com a outra, o aplicador juntamente com o dispositivo era posicionado a um ângulo de 45° com a vulva e introduzido com esse ângulo até tornar-se resistente, após isso, seu ângulo com a vulva era de 90° , ou seja, perpendicular ao corpo do animal e ali introduzia até novamente ter resistência no aplicador (final da vagina) o êmbolo era pressionado posicionando o dispositivo no fundo do saco vaginal (lugar correto).

Após o implante do dispositivo, era administrado 2,0mL de Benzoato de estradiol via intramuscular profunda e o animal identificado uma marcação com bastões ou corantes para verificar que este animal estava participando do protocolo, caso seu dispositivo fosse perdido.

QUADRO 3 – MANEJO FÊMEAS PARA INICIAR PROTOCOLO IATF

Categoria		Protocolo D0
Novilha	Útero em bom tamanho	SIM
	Útero pequeno	NÃO
	Ausência de Fol. ou CL	NÃO
	Folículo e CL	SIM
	Vazia	SIM
Vaca	Útero limpo	SIM
	Vazia	SIM

FONTE: A autora (2021).

2.2.2.2 D8

O D8 tem este nome pois é o oitavo dia após o implante do dispositivo de progesterona, este dia é marcado pela retirada do dispositivo, juntamente com a administração de três hormônios via intramuscular profunda, são eles: eCG, Cipionato de estradiol e prostaglandina, na dosagem de 1,5mL (PMSG 5000 UI/1000ML, Folligon ®, via intramuscular), 1,0ml (Cipionato de estradiol 0,5mg/ml, Ferticare Ovulação®, via intramuscular) e 1,5 ml (Cloprostenol 0,530mg/2000ml,Ciosin®, via intramuscular) respectivamente.

2.2.2.3 D10

O D10 é marcado pelo dia da inseminação artificial, neste dia era organizada uma mesa com bacia, tesoura, aplicadores, papel, descongelador de sêmen e ao lado o botijão de sêmen, onde estavam o sêmen armazenado até serem utilizados (FIGURA 20).

FIGURA 20- MESA ORGANIZADA PARA A INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL



Fonte: Arquivo pessoal (2021)

O sêmen foi descongelado em água com a temperatura de 37°C, por 30 segundos com o uso de um descongelador de sêmen automático. Enquanto o sêmen era descongelado, era feita uma limpeza com papel toalha na vulva da fêmea para evitar que sujidades adentrassem na hora da inseminação. Após o descongelamento, a palheta era secada com o auxílio de papel toalha, seco com muito cuidado para retirar o máximo de água possível da palheta, em seguida, a ponta era cortada com o auxílio de uma tesoura, e esta ponta cortada encaixada na bainha, o conjunto bainha e palheta era acoplado ao aplicador e estava pronto para iniciar a inseminação.

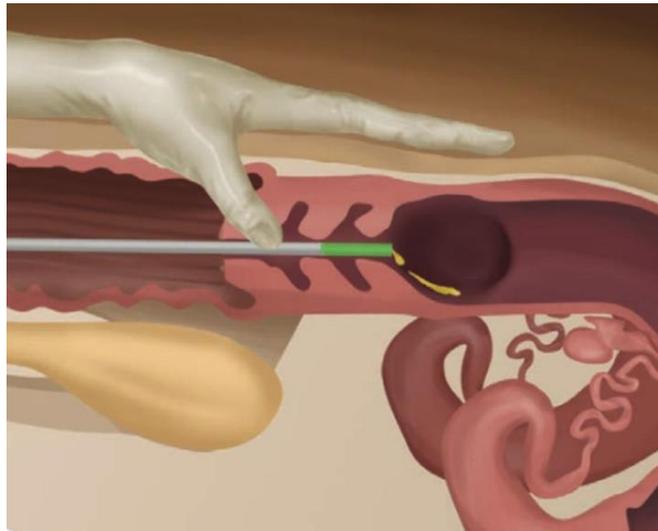
Com o auxílio de um colaborador, fazia a abertura da vulva e era introduzida parte do aplicador, com uma luva de palpação uma das mãos era introduzida no reto da vaca, enquanto a outra segurava o aplicador (FIGURA 21). Com a mão que estava introduzida no reto da vaca era manipulada a cérvix, e delicadamente o aplicador era guiado ao encontro da entrada dela com a outra mão. Este aplicador era guiado para que passasse os três anéis cervicais, assim que passava, o embolo do aplicador lentamente era pressionado e o sêmen depositado (FIGURA 22).

FIGURA 21- MOMENTO DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL



Fonte: Arquivo pessoal (2021)

FIGURA 22- SEMEN DEPOSITADO APÓS ÚLTIMO ANEL CERVICAL



Fonte: SENAR (2011).

Após realizada a inseminação artificial a vaca ou novilha era liberada e feito o diagnóstico de gestação após 30 dias.

2.2.2.4 Atividades acompanhadas

Na TABELA 3, segue as atividades acompanhadas no período do estágio 2, essas atividades além de acompanhadas, grande parte foi realizada pelo autor sob supervisão do médico veterinário responsável.

TABELA 3 – ATIVIDADES ACOMPANHADAS ESTÁGIO 2

Atividade	Acompanhadas
Protocolo IATF	357
Inseminação Artificial	357
Exame Andrológico	155
Retenção de placenta	1

FONTE: A autora (2021).

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os dois estágios foram de muita importância e crescimento profissional, os supervisores demonstraram como é o mercado de trabalho, foram trocas de experiência que muito agrega ao crescimento pessoal e profissional.

O contato com a transferência de embrião mostrou-se que é um mercado que tem muito a crescer, muitos proprietários se interessam na biotecnologia, porém tem receio de não dar certo, e o local do primeiro estágio mostrou que é uma biotecnologia muito segura e as portas permaneceram abertas para que pudesse aprender mais e pôr em prática essa biotecnologia.

Diante de todas essas horas de estágio, a certeza é de que cada vez mais a reprodução de bovinos já é uma escolha de vida.

REFERÊNCIAS

- BARBOSA, R. T.; MACHADO, R.; BERGAMASCHI, M. A. C.; **A importância do exame andrológico em bovinos**. São Carlos: EMBRAPA, 2005. Circular técnica 41.
- BARUSELLI, P. S.; CATUSSI, B. L. C.; ABREU, L. A.; ELLIFF, F. M.; SILVA, L. G.; BATISTA, E. S.; CREPALDI, G. A. Evolução e perspectivas da inseminação artificial em bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal.**, v.43, n.2, p.308-314, 2019.
- BARUSELLI, P. S.; FERREIRA, R. M.; SÁ FILHO, M. F.; BÓ, G. A. Review: Using artificial insemination v. natural service in beef herds. **Animal**, v.12, p.45-52,2018.
- BARUSELLI, P.S. **Mercado da IATF cresce 30% em 2020 e supera 21 milhões de procedimentos**. Boletim Eletrônico do Departamento de Reprodução Animal/FMVZ/USP, 5a ed., 2021. Disponível em: <http://vra.fmvz.usp.br/boletim-eletronico-vra/>. Acesso em: 05 out. 2021.
- BURATINI, J. JR. Foliculogênese em bovinos. **II Simpósio internacional de reprodução animal aplicada**, UEL, Londrina- Pr, p. 55-62, 2006.
- DIEGUES, F. **Seca: como se preparar para um dos períodos mais difíceis do ano.-** Mai 2021. Disponível em: <https://sba1.com/noticias/noticia/13051/Seca-como-se-preparar-para-um-dos-periodos-mais-dificeis-do-ano->. Acesso em: 20 out. 2021.
- GALLI, C.; LAZZARI, G. Practical aspects of IVM/IVF in cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 42, p.371-379, 1996. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(96\)01530-8](https://doi.org/10.1016/0378-4320(96)01530-8). Acesso em: 05 out. 2021.
- GONÇALVES, P.B.D.; VISINTIN, J. A.; OLIVEIRA, M. A. L.; MONTAGNER, M. M.; COSTA, L. F. S. Produção in vitro de embriões. In: GONÇALVES, P.B.D; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. **Biotécnicas aplicadas a reprodução animal**. São Paulo: Varela, p. 195-226, 2002.
- HONORATO, M.T. et al. Importância da escolha de receptoras em um programa de transferência de embriões em bovinos. **PUBVET**, Londrina, V. 7, N. 19, Ed. 242, Art. 1601, Outubro, 2013.
- MACHADO, R.; CORRÊA, R. F.; BARBOSA, R. T.; BERGAMASCHI, M. A. C. M. **Escore da condição corporal e sua aplicação no manejo reprodutivo de ruminantes**. São Carlos: EMBRAPA, 2008. Circular técnica 57.
- MONGELLI, M. S.; TAVARES, I. C.; FERRANTE, M. Evolução e premissas dos protocolos hormonais de inseminação artificial em tempo fixo na pecuária. **Ciência Animal**, v.31, n.1, p.119-133, 2021.
- NERY, M.; ZIEHLSDORF, N.; VELLOSO, F.; FRANZON, C.; VIVICQUIA, C.; GALDEANO, D.; GAUY, S. **Index ASBIA**. São Paulo: Cepea- Esalq/USP, 2020. Relatório técnico.
- OLIVEIRA, C.S.; SERAPIÃO, R. V.; QUINTÃO, C. C. R.; Biotécnicas da reprodução em bovinos: minicursos ministrados durante o 3º Simpósio “**Biotécnicas da Reprodução em Bovinos**” no Laboratório de Reprodução Animal do Campo Experimental Santa Mônica – Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2014. 52 p. (Embrapa Gado de Leite. Documentos, 175).

OLIVEIRA, F. A.; TORRES, C. A. A.; FILHO, J. M. P. Inseminação artificial em tempo fixo- Protocolos e aplicação. **82^o semana do fazendeiro**, Viçosa –MG, 2011.

PEIXER, P. F.; SANTOS, K. J. G.; SANTOS, A. P. P.; BACKES, C.; SANTOS, J. F. D.; CASTRO, C. S. Produção in vitro de embriões bovinos. **Revista Espacios**, v. 39, n. 16, 2018.

SANTOS, J. E. P.; SÁ FILHO, M. F. Nutrição e reprodução. **II Simpósio internacional de reprodução animal aplicada**, UEL, Londrina- Pr, p 30-54, 2006.

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. 6, jun. 2013. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abmvz/a/Yq8wqBjCgSpDtl64PV7QzGh/?lang=pt>. Acesso em: 15 Out. 2021. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352013000300017> .

SENAR - Serviço Nacional de Aprendizagem Rural. Inseminação Artificial: Bovinos / Serviço Nacional de Aprendizagem Rural. 3. ed. Brasília: Coleção SENAR 132, 2011. 48 p. il. Disponível em: <<https://www.cnabrazil.org.br/assets/arquivos/132-INSEMINAÇÃO.pdf>>. Acesso em: 20 out. 2021

SENEDA, M. M.; BLASCHI, W.; RUBIN, K.C.P.; LISBOA, L.A. Aspiração folicular *in vivo* : metodologias, eficiência e sequelas. Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 16, 2005, Goiânia, GO. **Anais**: Palestras. Disponível em: <https://pt.scribd.com/document/32846097/Aspiracao-Folicular-metodologia-eficiencia-sequelas>. Acesso em 17 Out 2021.

SILVA, A. E. D. F.; UNANIAN, M. M.; CORDEIRO, C. M. T.; FREITAS, A. R. Relação da circunferência escrotal e parâmetros da qualidade do sêmen em touros da raça nelore, PO. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 3, p. 1157-1165, 2002.

SOUZA, L.; **A inseminação artificial e a eficiência do rebanho (parte 2)** – set.2017 Disponível em: [https://www.scotconsultoria.com.br/noticias/artigos/46899/a-inseminacao-artificial-e-a-eficiencia-do-rebanho-\(parte-2\).htm](https://www.scotconsultoria.com.br/noticias/artigos/46899/a-inseminacao-artificial-e-a-eficiencia-do-rebanho-(parte-2).htm) Acesso em: 17 out. 2021.

STROEBECH, L.; MAZZONE, G.; PEDERSEN, H. S.; FREUDE, K. K.; KADARMIDEEN, H. N.; CALLESEN, H.; HYTTEL, P. In vitro production of bovine embryos: revisiting oocyte development and application of systems biology. **Anais...** Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões, Gramado- RS, v. 29, p. 148-156. 2015.

VARAGO, F. C.; MENDONCA, L. F.; LAGARES, M. A. Produção in vitro de embriões bovinos: estado da arte e perspectiva de uma técnica em constante evolução. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.32, n.2, p.100-109, abr./jun. 2008. Disponível em: www.cbra.org.br . Acesso em: 15 out 2021.

VIANA, J. H. M.; FIGUEIREDO, A.C.S.; SIQUEIR, L.G.B. Brazilian embryo industry in context: pitfalls, lessons, and expectations for the future. **Animal Reproduction**, v.14, p. 476-481, 2017.