

UNIVERSIDADE EVANGÉLICA DE GOIÁS – UniEVANGÉLICA
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

**DIFERENÇAS NA CONVERSÃO DE OÓCITOS DE RAÇAS ZEBUÍNAS E RAÇAS
TAURINAS**

Aline da Costa Lima
Bruna Flavia Lobo Abreu
Caio Carvalhêdo Martins
Layanne Thais Campos de Lima
Lucas dos Santos Trindade
Mário Kempes Lino Pereira

ANÁPOLIS – GO
2025

ALINE DA COSTA LIMA
BRUNA FLAVIA LOBO ABREU
CAIO CARVALHÊDO MARTINS
LAYANNE THAIS CAMPOS DE LIMA
LUCAS DOS SANTOS TRINDADE
MÁRIO KEMPES LINO PEREIRA

**DIFERENÇAS NA CONVERSÃO DE OÓCITOS DE RAÇAS ZEBUÍNAS E RAÇAS
TAURINAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a
Universidade Evangélica de Goiás – UniEvangélica,
para obtenção do título de Bacharel em Medicina
Veterinária.

Área de concentração: Fisiopatologia da
Reprodução

Orientador (a): Prof. Dra. Natália Cristina de Souza

ANÁPOLIS – GO
2025

ALINE DA COSTA LIMA
BRUNA FLAVIA LOBO ABREU
CAIO CARVALHÊDO MARTINS
LAYANNE THAIS CAMPOS DE LIMA
LUCAS DOS SANTOS TRINDADE
MÁRIO KEMPES LINO

DIFERENÇAS NA CONVERSÃO DE OÓCITOS DE RAÇAS ZEBUÍNAS E RAÇAS
TAURINAS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a
Universidade Evangélica de Goiás – UniEvangélica,
para obtenção do título de Bacharel em Medicina
Veterinária.

Área de concentração: Fisiopatologia da
Reprodução

Aprovada em _____

Banca examinadora

Prof. Dra. Natalia Cristina de Souza
Universidade Evangélica de Goiás – UniEvangélica
Presidente

Prof. (titulação). (nome)
Instituição de vínculo do membro

Prof. (titulação). (nome)
Instituição de vínculo do membro

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 6 |
| 2. REFERENCIAL TEÓRICO | 7 |
| 2.1. Anatomia reprodutiva | 7 |
| 2.2. Foliculogênese e ciclo estral | 8 |
| 3. MATERIAIS E MÉTODOS | 9 |
| 3.1. Grupo Experimental | 9 |
| 3.2. PIVE (Produção <i>in vitro</i> de Embriões) | 9 |
| 3.2.1. Grupo <i>Bos taurus</i> | 9 |
| 3.2.2. Grupo <i>Bos indicus</i> | 10 |
| 3.3. Aspiração Folicular (<i>Ovum Pick up</i>) | 10 |
| 3.4. Maturação <i>In Vitro</i> (MIV) | 10 |
| 3.5. Fecundação <i>In Vitro</i> (FIV) | 11 |
| 3.6. Cultivo <i>in Vitro</i> (CIV) | 11 |
| 3.7. Diagnóstico de Gestação | 11 |
| 3.8. Análise Estatística | 11 |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 12 |
| 5. CONCLUSÃO | 20 |
| 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 20 |

RESUMO

A produção in vitro de embriões (PIVE) é uma biotecnologia essencial para o avanço genético da bovinocultura, permitindo maior aproveitamento reprodutivo de animais de alto valor, mas diferenças fisiológicas entre *Bos indicus* e *Bos taurus* podem influenciar sua eficiência. Este estudo teve como objetivo comparar a conversão de oócitos em embriões viáveis e as taxas de prenhez entre fêmeas das duas subespécies em programas de PIVE. Foram avaliadas 174 vacas, sendo 119 doadoras *Bos taurus* (Holandês) e 55 *Bos indicus* (Gir Leiteiro), submetidas a sessões de aspiração folicular, maturação, fecundação e cultivo in vitro, registrando-se o número de oócitos viáveis, embriões produzidos, embriões transferidos a fresco, embriões criopreservados e taxas de prenhez aos 30 dias. As doadoras *Bos indicus* apresentaram maior número de oócitos viáveis, maior produção de embriões e maior taxa de prenhez em comparação às *Bos taurus* ($p < 0,0001$). Apesar dessa superioridade em produtividade e eficiência reprodutiva, as taurinas demonstraram maior criotolerância, favorecendo a viabilidade de embriões congelados. Conclui-se que as fêmeas *Bos indicus* oferecem maior eficiência para programas de PIVE em condições tropicais, enquanto *Bos taurus* apresentam vantagem quando a criopreservação é determinante. A escolha da subespécie deve considerar os objetivos de produção, e protocolos específicos para cada grupo genético são fundamentais para maximizar a eficiência reprodutiva e o retorno econômico.

ABSTRACT

In vitro embryo production (IVP) is a key biotechnology for advancing genetic progress in cattle, enabling greater reproductive efficiency in high-value animals; however, physiological differences between *Bos indicus* and *Bos taurus* may influence its effectiveness. This study aimed to compare oocyte-to-viable-embryo conversion and pregnancy rates between females of the two subspecies in IVP programs. A total of 174 cows were evaluated, including 119 *Bos taurus* (Holstein) and 55 *Bos indicus* (Gyr Dairy) donors, which underwent follicular aspiration, in vitro maturation, fertilization, and culture, with records of viable oocytes, embryos produced, embryos transferred fresh, cryopreserved embryos, and 30-day pregnancy rates. *Bos indicus* donors exhibited a higher number of viable oocytes, greater embryo production, and higher pregnancy rates compared to *Bos taurus* ($p < 0.0001$). Despite this superiority in productivity and reproductive efficiency, *Bos taurus* showed greater cryotolerance, favoring the viability of frozen embryos. In conclusion, *Bos indicus* females provide higher efficiency for IVP programs under tropical conditions, whereas *Bos taurus* offer an advantage when cryopreservation is critical. Subspecies selection should consider production goals, and specific protocols for each genetic group are essential to maximize reproductive efficiency and economic return.

1. INTRODUÇÃO

As biotecnologias reprodutivas têm desempenhado um papel fundamental na pecuária, possibilitando avanços significativos no melhoramento genético e no aumento da produtividade dos rebanhos. Há uma crescente evolução tanto no desenvolvimento econômico quanto no técnico, usando diferentes biotécnicas de reprodução, garantindo quantidade e eficiência nos resultados. Dentre essas biotecnologias, a Fertilização *In Vitro* (FIV) destaca-se como uma ferramenta essencial para a multiplicação rápida e eficiente de indivíduos geneticamente superiores, sendo amplamente utilizada tanto na bovinocultura de corte quanto na de leite (LUEDKE et al., 2019).

A coleta de oócitos por meio de punção folicular, guiada por ultrassonografia, conhecida como OPU (*ovum pick up*), associado a fertilização *in vitro*, tem sido cada vez mais utilizado como biotecnologia da reprodução. Essa técnica tem como características muito importantes, ser pouco invasiva e não precisar de uma pré-estimulação de hormônio no animal. (LUSTOSA et al., 2018). Esses oócitos são classificados e submetidos ao processo de Maturação *In Vitro* (MIV), cujo tempo pode variar conforme o protocolo do laboratório. No presente estudo, adotou-se um período de 12 a 18 horas para a maturação antes da fecundação. Nesse processo envolve a coleta de oócitos dos folículos ovarianos, que são divididos em três etapas biológicas, sendo a primeira a Maturação *In Vitro* (MIV), seguida da Fertilização *In Vitro* (FIV), e por último o Cultivo *In Vitro* (CIV) (LUSTOSA et al., 2018).

Apesar da eficiência da técnica, observa-se uma variação significativa na conversão de oócitos em embriões viáveis entre diferentes grupos genéticos, especialmente entre bovinos taurinos (*Bos taurus*) e zebuínos (*Bos indicus*). Alguns fatores como a fisiologia reprodutiva, grupo genético, as características dos oócitos e a resposta à maturação *in vitro* podem influenciar diretamente a taxa de sucesso da FIV em cada grupo (NOGUEIRA et al., 2021). Assim, compreender essas diferenças é essencial para otimizar protocolos e aprimorar a eficiência da biotecnologia reprodutiva.

O presente trabalho busca evidenciar as diferenças nos aspectos reprodutivos entre as subespécies *Bos indicus* e *Bos taurus*, relacionadas à quantidade de oócitos aspirados e obtidos pelas doadoras de cada subespécie, bem como verificar a viabilidade dos oócitos obtidos, refletindo na taxa de clivagem e de prenhez resultantes da transferência desses embriões produzidos e analisar seus impactos reprodutivos e financeiros nos rebanhos nacionais.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

Este tópico tem como objetivo apresentar o referencial teórico da pesquisa, fundamentando a diferença da conversão de oócitos entre as subespécies. Entre os temas de conceituações a serem abordados serão: a anatomia ovariana, foliculogênese e fases do ciclo estral, as subespécies *Bos indicus* e *Bos taurus* e as biotecnologias reprodutivas empregadas.

2.1. Anatomia reprodutiva

O sistema reprodutor feminino dos mamíferos domésticos é formado por estruturas externas e internas que atuam de forma integrada para garantir a fertilidade. A vulva, vestibulo, vagina, cérvix, útero e tubas uterinas desempenham papéis essenciais na cópula, proteção, fecundação, implantação e gestação (DAS; MUKHERJEE; BANERJEE, 2023).

Fisiologicamente, ovários possuem funções endócrinas e exócrinas, sendo a função endócrina a produção de vários hormônios importantes para a reprodução como: estrógeno, progesterona, relaxina, entre outros (AL-SUHAIMI, 2022). Já sua função exócrina está relacionada diretamente com a liberação do oócito, ou seja, além da função hormonal, o ovários tem a função de foliculogênese (AL-SUHAIMI, 2022).

São estruturas pares, localizadas na cavidade pélvica (animais jovens) ou abdominal (fêmeas multíparas). Apresentam forma ovoide, ligeiramente achatada, que varia conforme a fase do ciclo estral (HAFEZ, 2004).

Histologicamente, os ovários possuem duas regiões: a cortical e a medular. A medula ovariana é localizada na porção mais interna do ovário (com exceção dos equídeos) e consiste do arranjo irregular de tecido conjuntivo e extenso sistema nervoso e vascular. A região cortical contém folículos ovarianos, em vários estádios de desenvolvimento, e corpos lúteos (KÖNIG et al. 2016).

O folículo é a unidade morfofuncional do ovário, sendo constituído por um oócito circundado por células somáticas (células da granulosa e tecais). De acordo com o grau de desenvolvimento, os folículos podem ser divididos em: a) folículos pré-antrais ou não cavitários; e b) folículos antrais ou cavitários. Os folículos ovarianos pré-antrais armazenam a grande maioria dos oócitos presentes no ovário. Entretanto, 99% deles não chegam à ovulação, sendo eliminada por um processo conhecido por “atresia folicular”. Estima-se a existência de uma população de 143.929 folículos pré-antrais em fetos *Bos indicus* e de 285.155 em fetos *Bos taurus*, os quais são reduzidos para uma população de 70 mil a 80 mil

folículos pré-antrais em fêmeas de aproximadamente 12 meses de idade (SILVA-SANTOS et al., 2011).

2.2. Foliculogênese e ciclo estral

O desenvolvimento folicular em fêmeas bovinas ocorre em ondas, sendo cada onda composta por três fases bem definidas: recrutamento, seleção, dominância e ovulação (DAS; MUKHERJEE; BANERJEE, 2023).

A fase de recrutamento é caracterizada pelo início do crescimento de folículos antrais, processo mediado principalmente pelo hormônio folículo-estimulante (FSH). Esses folículos iniciam seu crescimento sob a influência de concentrações crescentes de FSH, que promovem a proliferação e diferenciação das células da granulosa (ORISAKA et al., 2021). Na fase de seleção e dominância, um dos folículos recrutados apresenta maior sensibilidade ao FSH e inicia crescimento mais acelerado, adquirindo características de dominância (RICHARD et al., 2024.). A presença do folículo dominante exerce um efeito inibitório sobre os folículos subordinados por meio da produção de estradiol (E2) e inibina, resultando em supressão dos níveis circulantes de FSH (DOS SANTOS et al., 2023). O crescimento do folículo dominante nessa fase torna-se dependente de FSH e de pulsos basais de hormônio luteinizante (LH), sendo o principal responsável pela produção de elevadas concentrações de 17 β -estradiol (AKDÖNER et al., 2025).

A ovulação ocorre quando o folículo dominante atinge um estágio avançado de desenvolvimento e induz, por meio do feedback positivo do estradiol sobre o eixo hipotálamo-hipófise, a liberação do pico pré-ovulatório de LH (MA et al., 2023). No entanto, a ovulação só é efetivada na ausência de concentrações elevadas de progesterona, o que implica na regressão do corpo lúteo da fase anterior. Caso um corpo lúteo funcional esteja presente, os altos níveis de progesterona inibem o pico de LH e, consequentemente, impedem a ovulação ((MA et al., 2023).

Os folículos que não ovulam, inclusive aqueles que atingem dominância, entram em atresia, processo degenerativo mediado por apoptose celular. Em condições fisiológicas, apenas um folículo ovula por ciclo estral, liberando um oócito (HAN et al., 2025.).

Em fêmeas bovinas, o ciclo estral compreende, em média, duas a três ondas de crescimento folicular. Apenas a última onda, que se desenvolve na ausência de níveis elevados de progesterona, culmina na ovulação. A compreensão da dinâmica folicular é fundamental para a aplicação de técnicas reprodutivas, como a inseminação artificial em

tempo fixo (IATF) e a superovulação (GINTHER et al., 1989; AERTS e BOLS, 2010; OLIVEIRA et al, 2014).

O ciclo estral nos bovinos varia de 17 a 25 dias, com semelhança entre taurinos e Zebuínos (BARROS et al., 1995; SIROIS & FORTUNE, 1988). Nas raças de origem Européia (*Bos taurus taurus*) a duração do ciclo estral é de 21 dias com variação de 3,7 dias para vacas e 20 dias com variação de 2,3 dias para novilhas (WRIGHT & MALMO, 1992), enquanto que em raças de origem Indiana (*Bos taurus indicus*) varia de 17 a 24 dias (MUKASA-MUGERWA, 1989; GALINA & ARTHUR, 1990; PINHEIRO et al., 1998).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Grupo Experimental

Foram incluídas no estudo um total de 174 vacas, sendo divididas em 2 grupos experimentais, o experimento foi desenvolvido na cidade de Anápolis, Estado de Goiás. As vacas foram divididas em 2 grupos experimentais. O Grupo *Bos taurus* foi composto por 119 vacas doadoras pertencente a raça Holandesa.

O Grupo *Bos indicus* foi composto por 55 vacas doadoras pertencentes à raça Gir Leiteiro. Ambos os grupos de vacas em lactação foram mantidas em sistema Compost Barn e as vacas secas foram mantidas em piquetes, portanto, quanto ao manejo nutricional foram iguais para cada grupo.

3.2 PIVE (Produção *in vitro* de Embriões)

3.2.1. Grupo *Bos taurus*

Foram utilizadas 119 vacas doadoras, submetidas a sessões de aspiração folicular realizadas ao longo de 12 meses, totalizando 276 procedimentos. As coletas resultaram na recuperação de 2.687 oócitos, os quais foram submetidos a processos de seleção e maturação *in vitro*. Após a maturação, procedeu-se à fecundação *in vitro* (FIV) e ao cultivo embrionário até o estágio de blastocisto, obtendo-se 481 embriões viáveis. Desses, 239 embriões foram transferidos para receptoras. O diagnóstico de gestação foi realizado 30 dias após a transferência embrionária, com a confirmação de 68 prenhez.

3.2.2. Grupo *Bos indicus*

Foram aspiradas 55 vacas, ou seja, durante o ano todo foram aspiradas 143 vezes onde obtiveram 2.783 oócitos aspirados, dentre esses oócitos aspirados foram selecionados, maturados, e posteriormente realizou-se a fecundação *in vitro* (FIV), e maturação do embrião até se tornarem blastocisto, totalizando 652 embriões produzidos. Posteriormente, foi realizada 564 transferências de embriões e aos 30 dias foram diagnosticadas 204 prenhes.

3.3. Aspiração Folicular (*Ovum Pick up*)

A aspiração folicular foi realizada por via transvaginal, sob orientação ultrassonográfica. As doadoras de oócitos foram contidas em tronco adequado para contenção física. Em seguida, realizou-se a antisepsia da região perineal e da base da cauda com solução antisséptica apropriada.

Para a anestesia, foi empregada a técnica epidural, com inserção de uma agulha no espaço sacrococcígeo e administração de 2 a 4 ml de cloridrato de lidocaína a 2%. Utilizou-se uma agulha descartável de calibre 19G, acoplada a um transdutor setorial adaptado para punção transvaginal, que foi introduzido na cavidade vaginal.

A identificação e manipulação dos ovários foram realizadas por via retal, permitindo sua tração até a parede do fundo vaginal. A visualização ultrassonográfica evidenciou a presença de folículos anecóicos. Com os ovários estabilizados, a agulha foi cuidadosamente introduzida no interior de cada folículo dominante para aspiração do conteúdo folicular.

O fluido aspirado foi conduzido por uma sonda até tubos Falcon contendo solução tamponada de fosfato de Dulbecco (DPBS), suplementada com heparina (10 UI/ml) e soro fetal bovino (SFB), visando à preservação e viabilidade dos oócitos recuperados.

3.4. Maturação *In Vitro* (MIV)

A maturação dos oócitos foi realizada através de um ambiente atmosférico adequado (é de 5% de CO₂ e 20% de O₂, com umidade saturada). Os procedimentos realizados passam pela preparação de placa de maturação, e posteriormente foi realizado o rastreamento dos oócitos com intuito de filtração e limpeza dos mesmos. Os oócitos foram maturados em estufa durante o período de 24 horas.

3.5. Fecundação *In Vitro* (FIV)

Foram incubados os oócitos juntamente com os espermatozoides por um período de 18 a 22 h, nas mesmas condições de atmosfera, temperatura e umidade adotadas para a maturação *in vitro*.

3.6. Cultivo *in Vitro* (CIV)

Foi realizada a preparação da placa de cultivo, onde em uma placa de Petri aplicou-se 100 µL de meio (SOF suplementado com SFB, BSA, aminoácidos, piruvato, lactato e glutamina). Logo após foi realizado o desnudamento com auxílio de uma pipeta de 100 µL.

Os embriões foram lavados em meio e por fim foi avaliado a taxa de clivagem até o embrião atingir a forma de blastocisto.

Os embriões foram classificados e criopreservados para posteriormente serem transferidos para as receptoras.

3.7. Diagnóstico de Gestação

Após a realização da conversão de oócitos, as vacas de ambos os grupos foram submetidas à realização do diagnóstico de gestação aos 30 dias.

3.8. Análise Estatística

A análise estatística foi realizada no software GraphPad Prism versão 8.4.3 (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA). Inicialmente, todos os parâmetros e variáveis foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro–Wilk para verificar a adequação ao uso de testes paramétricos. Os parâmetros referentes à produção embrionária, número de oócitos viáveis, oócitos inviáveis, total de oócitos, percentual de viabilidade embrionária, embriões transferidos a fresco, transferidos após descongelamento, embriões congelados, bem como os vendidos/descartados, total de transferências realizadas, percentual de prenhez, sexagem e percentual de eficiência foram comparados entre os grupos *Bos taurus* e *Bos indicus* por meio do teste t de Student não pareado quando apresentaram distribuição normal ou pelo teste não paramétrico de Mann–Whitney quando não atenderam ao pressuposto de normalidade. Esses resultados foram expressos em média ± desvio-padrão (DP), de acordo com a distribuição observada.

As variáveis categóricas, incluindo a taxa de prenhez e a ocorrência de morte embrionária e aborto, foram analisadas como desfechos binários (sim ou não). Para a comparação entre os grupos raciais, aplicou-se o teste do qui-quadrado de Pearson (χ^2) e, nos casos em que as frequências esperadas foram inferiores a 5, utilizou-se o teste exato de Fisher. Em todas as análises estatísticas adotou-se o nível de significância de $p < 0,05$.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A produção *in vitro* de embriões (PIVE) tem se consolidado como uma biotecnologia de grande relevância para o avanço genético dos rebanhos bovinos, permitindo a multiplicação de animais de alto valor zootécnico em larga escala (FERRÉ et al., 2020). Entretanto, a eficiência dessa técnica depende de uma série de fatores, entre os quais se destaca a origem dos oócitos utilizados. Evidências consistentes demonstram que diferenças fisiológicas e reprodutivas entre as subespécies *Bos indicus* (zebuínas) e *Bos taurus* (taurinas) influenciam diretamente a quantidade e a qualidade dos oócitos recuperados, refletindo no desempenho final da produção embrionária (KUMARESAN et al., 2021).

Na Figura 1 observa-se diferença significativa entre as subespécies *Bos taurus* e *Bos indicus* quanto ao número de oócitos viáveis, inviáveis e totais. As doadoras zebuínas apresentaram maior número de oócitos viáveis (média de 204 contra 68 nas taurinas) (Figura 1A), diferença confirmada estatisticamente (**** $p < 0,0001$). Essa maior produção de oócitos viáveis está de acordo com a literatura, que relata superioridade das raças zebuínas em programas de produção *in vitro* de embriões (PIVE) em razão do maior número de folículos antrais e maior reserva ovariana funcional (YUSUF, 2024; SALEK et al., 2025).

Em relação aos oócitos inviáveis (Figura 1B), verificou-se novamente diferença significativa (**** $p < 0,0001$), com *Bos indicus* apresentando valores mais elevados que *Bos taurus*. Isso indica que, embora as zebuínas produzam maior quantidade total de oócitos, parte desse ganho é composta também por estruturas inviáveis. Esse achado é consistente com os resultados de Sales et al. (2015), que observaram maior recuperação global de oócitos em vacas Gir em comparação a vacas holandesa, incluindo uma fração considerável de estruturas não aptas ao cultivo.

No gráfico de oócitos totais (Figura 1C), a diferença entre as subespécies também foi significativa (** $p < 0,01$), com médias superiores para *Bos indicus*. Esses resultados refletem a maior contagem de folículos antrais (AFC) descrita em doadoras zebuínas, característica

diretamente relacionada à taxa de recuperação de complexos cumulus-oócitos (COCs) durante a OPU (ovum pick-up) (BARUSELLI et al., 2021).

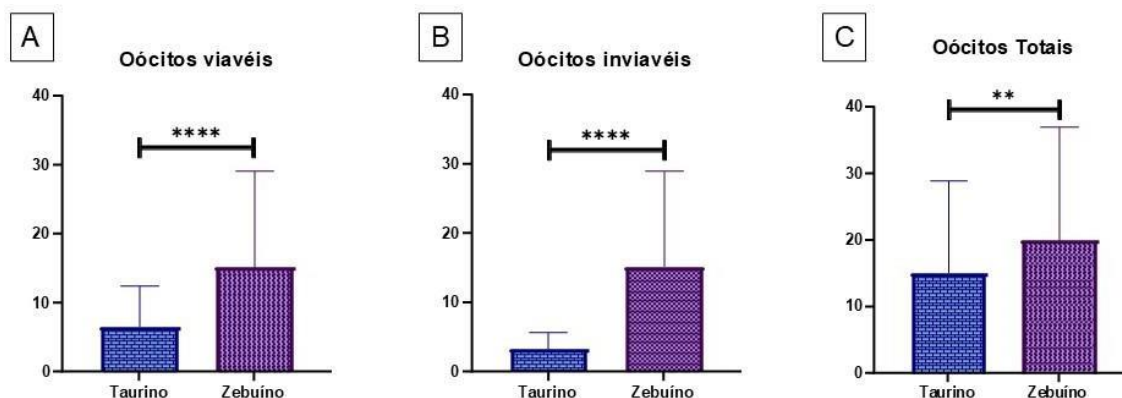


Figura 1. Comparação da recuperação e viabilidade de oócitos em taurinos e zebuínos. (A) Número de oócitos viáveis recuperados. (B) Número de oócitos inviáveis. (C) Total de oócitos obtidos em cada grupo. Os resultados estão expressos como média \pm desvio-padrão, evidenciando maior recuperação de oócitos em zebuínos em relação aos taurinos. Diferenças estatísticas estão indicadas por asteriscos (** $p < 0,01$; **** $p < 0,0001$).

Esses resultados sugerem que a vantagem de *Bos indicus* não está apenas no número total de estruturas recuperadas, mas também na capacidade de gerar embriões viáveis. Uma possível explicação fisiológica é a maior sensibilidade das zebuínas ao FSH e diferenças no perfil endócrino (IGF-1, insulina), que favorecem o recrutamento folicular e a competência oocitária (BATISTA et al., 2014). Além disso, adaptações ao estresse térmico permitem que os oócitos de *Bos indicus* mantenham melhor qualidade sob condições ambientais tropicais, ao contrário de muitas raças taurinas (CAMARGO et al., 2018). Esses resultados corroboram com Guimarães, et al. (2020) que obtiveram resultados semelhantes, pois, dos oócitos recuperados, um maior número de oócitos viáveis (15,9 oócitos/doadora) foi obtido de vacas zebuínas ($n = 2.556$) do que aquele (11,4 oócitos/doadora) obtido de vacas taurinas ($n = 1.903$) ($P = 0,008$).

Apesar da superioridade numérica observada para *Bos indicus*, é importante destacar que o maior número de oócitos inviáveis indica necessidade de estratégias que melhorem a proporção de estruturas utilizáveis. Dessa forma, a eficiência global de um programa de PIVE deve ser analisada tanto em números absolutos quanto em taxas relativas (embriões/oócito viável), uma vez que variáveis de manejo, dieta, estação e protocolos laboratoriais que podem influenciar diretamente os resultados (DEMETRIO et al., 2020).

A análise dos parâmetros embrionários evidenciou diferenças significativas entre as subespécies *Bos taurus* e *Bos indicus* em todos os parâmetros avaliados (Figura 2). No gráfico de viabilidade dos embriões (Figura 2A), observou-se que as doadoras zebuínas apresentaram

média de embriões viáveis significativamente superior às taurinas (**** $p < 0,0001$). Esse resultado demonstra que a maior produção de oócitos em *Bos indicus*, previamente descrita, reflete diretamente na quantidade de embriões com potencial de desenvolvimento. Guimarães et al. (2020) também reportaram que vacas zebuínas produziram maior número de embriões viáveis (5,7 embriões/doadora) em comparação às taurinas (2,2 embriões/doadora), confirmando a influência da raça sobre a competência embrionária.

Em relação ao número total de embriões produzidos (Figura 2B), verificou-se superioridade de *Bos indicus* (**** $p < 0,0001$), com médias superiores quando comparadas às taurinas. Resultados semelhantes foram encontrados por De Lima Moschini et al. (2021), que observaram que a produção média foi de 8,3 embriões/doadora em zebuínas contra 4,4 em taurinas, ressaltando a contribuição da reserva folicular ampliada e maior taxa de resposta à OPU nas raças índicas.

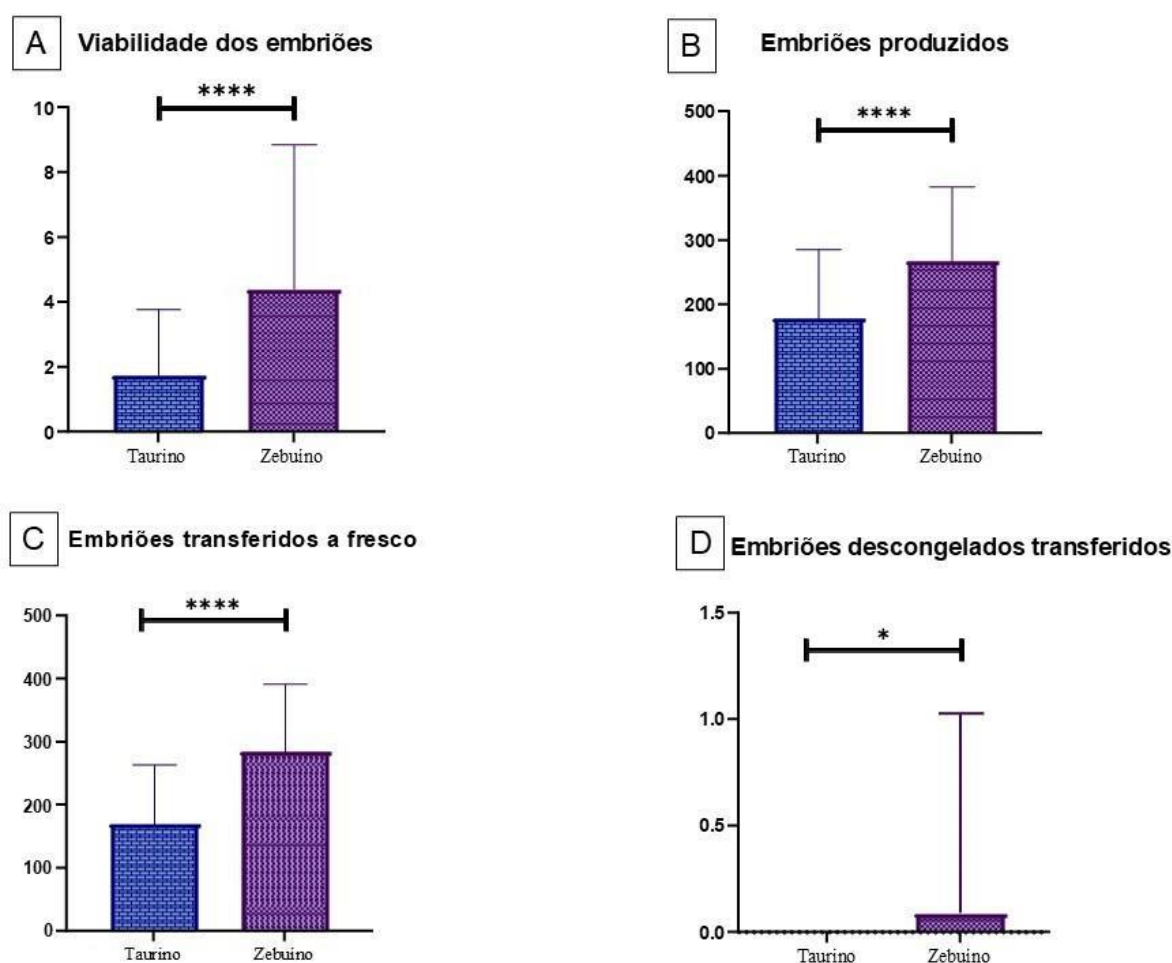


Figura 2. Produção, viabilidade e utilização de embriões em receptoras taurinas e zebuínas. (A) Viabilidade embrionária avaliada após a produção in vitro. (B) Total de embriões produzidos. (C) Número de embriões transferidos a fresco. (D) Número de embriões descongelados e posteriormente transferidos. Os resultados estão

expressos como média \pm desvio-padrão, evidenciando maiores valores em zebuínos em relação aos taurinos. Diferenças estatísticas estão indicadas por asteriscos (* $p < 0,05$; **** $p < 0,0001$).

Os embriões transferidos a fresco (Figura 2C) também foram mais numerosos no grupo *Bos indicus* (**** $p < 0,0001$). Tal resultado indica que não apenas mais embriões são produzidos, mas também maior proporção deles é considerada apta à utilização imediata. Este aspecto é relevante em programas comerciais, visto que a transferência a fresco reduz perdas associadas à criopreservação. Estudos anteriores apontam desempenho semelhante com maior taxa de blastocisto em zebuínas submetidas a dietas energéticas, evidenciando superioridade no aproveitamento de embriões viáveis para uso direto (SALES et al. 2015).

Já no parâmetro embriões descongelados transferidos (Figura 2D), a diferença foi significativa, mas menos expressiva (* $p < 0,05$). Enquanto nas taurinas praticamente não houve utilização considerável de embriões congelados, mesmo assim as zebuínas apresentaram valores discretamente superiores. Vale ressaltar que, de acordo com a literatura, existe diferença relacionada à maior resistência dos embriões de *Bos indicus* ao estresse térmico e oxidativo, conforme descrito em estudos de criotolerância embrionária, que sugerem perfil molecular distinto entre blastocistos de *Bos indicus* e *Bos taurus* após criopreservação (SUDANO et al., 2014).

Os resultados relativos à produção de oócitos e embriões já demonstraram vantagem na utilização de doadoras *Bos indicus* em relação a quantidade de oócitos viáveis, embriões produzidos, viabilidade, e transferência fresca, quando comparadas às *Bos taurus*. No entanto, para avaliar realmente a eficiência reprodutiva em nível prático, é essencial também examinar os resultados de transferência de embriões e prenhez. Esses indicadores demonstram não só a capacidade de produzir embriões, mas se esses embriões efetivamente resultam em gestação sustentável, refletindo competência embrionária, qualidade do embrião transferido, receptividade do receptor e tolerância ao estresse.

Dessa forma, a avaliação do desempenho reprodutivo após a produção *in vitro* de embriões demonstrou diferenças significativas entre *Bos indicus* e *Bos taurus* nos parâmetros de transferência embrionária e taxa de prenhez (Figura 3). No gráfico de total de transferências realizadas (Figura 3A), verificou-se que as doadoras zebuínas apresentaram número significativamente maior de embriões transferidos em comparação às taurinas (**** $p < 0,0001$). Esse resultado está de acordo com a maior disponibilidade de embriões viáveis observada nas análises anteriores (Figura 2), reforçando que a maior competência oocitária e embrionária de *Bos indicus* repercute em maior aproveitamento para transferência. Trabalhos recentes confirmam essa tendência. De Lima Moschini et al. (2021) relataram número superior

de embriões transferíveis em vacas zebuínas em relação às taurinas, embora reconheçam a variabilidade entre doadoras.

O parâmetro prenhez absoluta (número de receptoras prenhes vs. não prenhes) evidenciou vantagem significativa de *Bos indicus* (**p < 0,001) (Figura 3B). Observou-se que o número de receptoras prenhes oriundas de embriões zebuínos foi consideravelmente superior ao das taurinas, indicando maior eficiência no estabelecimento da gestação. Marinho et al. (2015) obtiveram resultados semelhantes ao comparar embriões vitrificados de Gir e Holandês, com taxas de prenhez de 46,1 % e 32,5 %, respectivamente. Esses achados sugerem que a origem racial dos embriões influencia diretamente a capacidade de manutenção inicial da gestação.

No gráfico de porcentagem de prenhez (Figura 3C), verificou-se novamente diferença significativa (****p < 0,0001), com zebuínas apresentando maiores taxas de conversão de transferências em gestações confirmadas. Esse dado tem grande relevância prática, pois demonstra que a vantagem de *Bos indicus* não é apenas numérica (maior número de embriões transferidos), mas também proporcional, com maior eficiência reprodutiva global. Estudo de Guimarães et al. (2020) corrobora esses resultados ao reportar maiores taxas de blastocistos viáveis e melhores índices de prenhez em doadoras zebuínas, comparadas às taurinas.

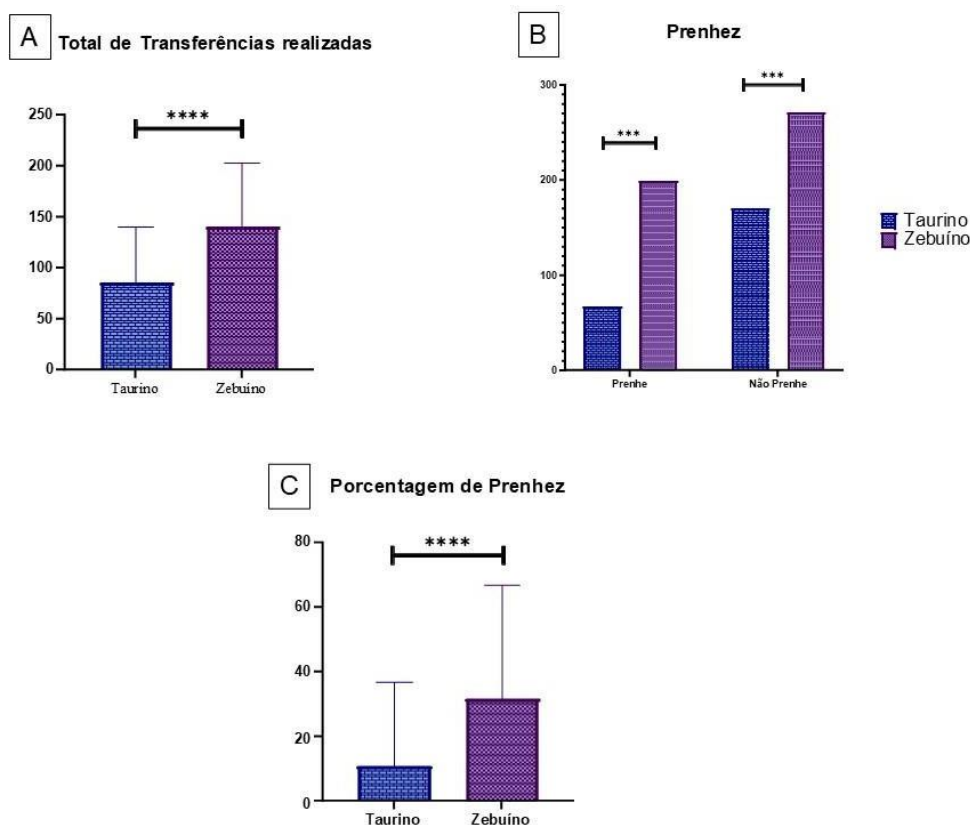


Figura 3. Comparação do desempenho reprodutivo entre receptoras taurinas e zebuínas submetidas à transferência de embriões. (A) Total de transferências realizadas em cada grupo. (B) Número absoluto de fêmeas prenhes e não prenhes após a transferência embrionária. (C) Porcentagem de prenhez obtida em receptoras taurinas e zebuínas. Os dados estão expressos como média \pm desvio-padrão, com diferenças significativas indicadas por asteriscos (***) $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$).

Do ponto de vista fisiológico, a superioridade de *Bos indicus* pode ser atribuída a fatores como maior contagem de folículos antrais e melhor competência oocitária, mas também a características adaptativas, como maior resistência ao estresse térmico e oxidativo, que podem favorecer o desenvolvimento embrionário e a sobrevivência após transferência (SILVA et al., 2023). Além disso, estudos realizados em condições tropicais reforçam que embriões de origem zebuína ou de cruzamentos com predominância zebuína tendem a apresentar maior sucesso em programas de TE (transferência de embriões), especialmente quando receptores estão submetidos a desafios ambientais (PÉREZ-MORA et al., 2020).

Por outro lado, é importante destacar que, apesar das taxas superiores em zebuínas, fatores de manejo, nutrição das receptoras, sincronização do ciclo e qualidade do corpo lúteo são determinantes para o sucesso da gestação, independentemente da raça do embrião. Assim, protocolos específicos para taurinas podem ser necessários para otimizar seus resultados, reduzindo a diferença observada entre as subespécies.

Em relação as taxas de morte embrionária e de aborto não apresentaram diferenças estatísticas entre os grupos ($p > 0,05$) (Figura 4A e B), indicando similaridade na viabilidade gestacional inicial. De forma semelhante, a proporção de embriões não sexados também não diferiu ($p > 0,05$) (Figura 4C). Em contraste, observou-se maior proporção de embriões do sexo masculino em zebuínos ($p < 0,0001$) (Figura 4D), da mesma forma a produção de embriões fêmea foi significativamente superior em zebuínos ($p < 0,0001$) (Figura 4E). A eficiência de prenhez foi maior nas doadoras zebuínas ($p < 0,0001$), refletindo maior conversão de oócitos em prenhezes confirmadas (Figura 4F). O número de embriões congelados apresentou diferença significativa, para o grupo taurino ($p < 0,05$) (Figura 4G). Por fim, a variável embriões vendidos/descartados foi maior em taurinos ($p < 0,0001$), sugerindo maior descarte ou menor aproveitamento comercial dos embriões dessa subespécie (Figura 4H).

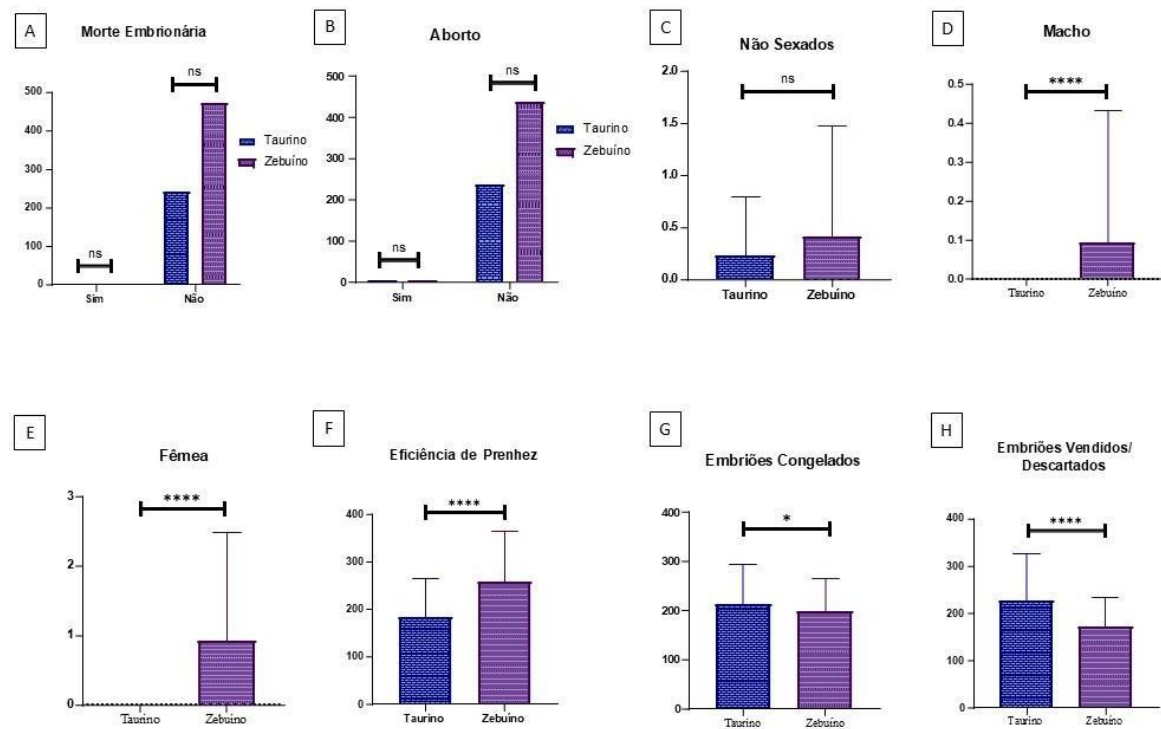


Figura 4. Desfechos reprodutivos e aproveitamento de embriões em taurinos e zebuínos. (A) Incidência de morte embrionária. (B) Taxa de aborto. (C) Embriões não sexados. (D) Embriões do sexo masculino. (E) Embriões do sexo feminino. (F) Eficiência de prenhez. (G) Número de embriões congelados. (H) Embriões vendidos ou descartados. Os resultados estão expressos como média \pm desvio-padrão. Diferenças estatísticas significativas estão indicadas por asteriscos (* $p < 0,05$; **** $p < 0,0001$), enquanto “ns” indica ausência de significância.

A maior proporção de embriões do sexo masculino em zebuínos pode estar associada a diferenças no microambiente folicular e na dinâmica de maturação oocitária. Trabalhos recentes demonstram que concentrações hormonais e composição do fluido folicular influenciam a taxa de fecundação de espermatozoides portadores do cromossomo Y, favorecendo ligeiramente a produção de machos em *Bos indicus* (KUMARESAN et al., 2020). Apesar disso, a produção de fêmeas também foi superior em zebuínos, o que reflete principalmente o maior número total de embriões obtidos por sessão de OPU (SALES et al., 2015; ROTAR et al., 2019; SARWAR et al., 2020). Assim, a vantagem zebuína parece estar relacionada ao maior recrutamento folicular e à maior competência oocitária, características já bem documentadas para essas raças (ZANGIROLAMO et al., 2018; AGUILA et al., 2020).

A superioridade zebuína em eficiência de prenhez é consistente com dados publicados, indicando maior número de blastocistos produzidos por doadora *Bos indicus* em comparação a *Bos taurus* (PONTES et al., 2010; GUIMARÃES et al., 2020; DE LIMA MOSCHINI et al., 2021). Estudos recentes atribuem esse desempenho a maior reserva ovariana (maior contagem de folículos antrais e concentrações séricas de AMH), que garante maior número de oócitos competentes por coleta (BARUSELLI et al., 2018). Além disso, oócitos zebuínos apresentam

citoplasma com maior densidade mitocondrial e metabolismo lipídico que favorecem o desenvolvimento embrionário inicial (BRADLEY & SWANN, 2019).

O discreto aumento de embriões congelados em taurinos, reflete maior criotolerância embrionária frequentemente observada em *Bos taurus* (MENEGHEL et al., 2017; DE ANDRADE MELO-STERZA & POEHLAND, 2021). Embriões taurinos apresentam menor acúmulo lipídico, característica associada a melhor sobrevivência pós-descongelamento (LEÃO et al., 2017). Essa diferença tem implicações comerciais, pois embriões de taurinos tendem a manter maior viabilidade após criopreservação, compensando parcialmente a menor eficiência de produção inicial.

Por fim, a maior proporção de embriões vendidos ou descartados em taurinos pode refletir tanto menor taxa de prenhez quanto maior descarte decorrente de padrões de qualidade morfológica inferiores. Esses achados reforçam a necessidade de protocolos específicos para otimizar a produção *in vitro* em raças taurinas, incluindo ajustes em meios de maturação e suplementação antioxidante, estratégias que têm mostrado ganhos de produção em estudos recentes (LIZARRAGA et al., 2020; PIOLTINE et al., 2021).

Estudos recentes buscam desvendar os mecanismos envolvidos nas diferenças reprodutivas entre as raças bovinas (SARTORI et al., 2016), alguns autores aplicam essas diferenças com relação à população folicular (ALVAREZ et al., 2000), à quantidade de insulina produzida, à produção de um fator de crescimento semelhante à insulina tipo I (IGF-1) (GIMENES et al., 2015), ou à diferença na concentração do hormônio antimülleriano (AMH) (BATISTA et al., 2014).

Diversos estudos têm demonstrado diferenças fisiológicas marcantes entre fêmeas bovinas zebuínas e taurinas no que se refere à dinâmica folicular, aos perfis endócrinos e à resposta reprodutiva. De acordo com Batista et al. (2020), essas diferenças incluem variações significativas nos níveis circulantes de progesterona (P4), na frequência de pulsos do hormônio luteinizante (LH) e na dinâmica de crescimento folicular.

As fêmeas *Bos indicus* tendem a apresentar uma população folicular mais numerosa, refletida em uma maior quantidade de folículos em desenvolvimento nos ovários. Essa característica está diretamente associada a um maior número de COCs recuperados por meio da OPU, quando comparadas às fêmeas taurinas (Pontes et al., 2009). Além disso, Batista et al. (2014) relatam que vacas zebuínas possuem uma proporção mais elevada de oócitos viáveis, fato atribuído à sua maior reserva de folículos antrais.

A maior taxa de recrutamento folicular observada em *Bos indicus* parece estar funcionalmente relacionada ao sistema do fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1

(IGF-1). Alvarez et al. (2000) demonstraram que vacas da raça Brahman apresentam concentrações plasmáticas mais elevadas de IGF-1 e níveis mais baixos de hormônio folículo-estimulante (FSH) em comparação às vacas taurinas da raça Angus. Tais diferenças endócrinas podem explicar, ao menos em parte, a maior eficiência reprodutiva observada nas fêmeas zebuínas em protocolos que envolvem biotécnicas da reprodução.

5. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo demonstram de forma consistente a superioridade das fêmeas *Bos indicus* em todas as etapas da produção *in vitro* de embriões, desde a recuperação de oócitos até a taxa final de prenhez. As doadoras zebuínas apresentaram maior número de oócitos viáveis, maior produção de embriões, maior aproveitamento para transferências a fresco e maior eficiência na conversão em gestações confirmadas, quando comparadas às doadoras taurinas. Esses achados refletem características fisiológicas próprias das raças zebuínas, como maior contagem de folículos antrais, maior reserva ovariana funcional, perfil endócrino favorável e maior tolerância ao estresse térmico.

Assim, a escolha da subespécie para programas de PIVE deve considerar não apenas a produtividade imediata, mas também o objetivo final do sistema de produção, voltado para maior taxa de prenhez em condições tropicais. Esses dados evidenciam que protocolos específicos, adaptados às particularidades de cada grupo genético, são fundamentais para maximizar a eficiência reprodutiva e o retorno econômico dos programas de biotecnologia da reprodução.

Apesar dessas diferenças, é necessário ressaltar que tudo depende do que o produtor deseja com relação as características desejáveis em seu rebanho, uma vez que são subespécies diferentes onde as raças zebuínas denotam rusticidade, resistência ao clima e uma considerável produção de leite, bem como as espécies taurinas que possuem características de serem maiores produtoras de leite, e na bovinocultura de corte que podem atingir o peso mais rápido, evidenciam maior quantidade de gordura entremeada (marmoreio), maior peso ao desmame dentre outras qualidades relacionadas a raça.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AERTS, J. M. J.; BOLS, P. E. J. Ovarian follicular dynamics. A review with emphasis on the bovine species. Part II: antral development, exogenous influence and future prospects. **Reprod. Dom. Anim.**, v. 45, p.180-187, 2010.

AGUILA, L., TREULEN, F., THERRIEN, J., FELMER, R., VALDIVIA, M., & SMITH, L. C. Oocyte selection for in vitro embryo production in bovine species: noninvasive approaches for new challenges of oocyte competence. **Animals**, 10(12), 2196, 2020.

AKDÖNER, A., YAVUZ, O., MANKAN, K. A., BALCI, U., KOVALI SEZER, M., DOĞAN, S. S., ... & GÜNEY, M. Basal LH/FSH ratio and basal estradiol level in relation to oocyte and embryo quality in cases with polycystic ovary syndrome. **Jinekoloji-Obstetrik & Neonatoloji Tip Dergisi**, v. 22, n. 2, 2025.

AL-SUHAIMI, EBTESAM A. Introduction to Endocrinology. **In: Emerging Concepts in Endocrine Structure and Functions**. Singapore: **Springer Nature Singapore**, p. 1-24. 2022.

ALVAREZ, P.; SPICER, L.J.; CHASE JR., C.C.; PAYTON, M.E.; HAMILTON, T.D.; STEWART, R.E.; HAMMOND, A.C.; OLSON, T.A.; WETTEMANN, R.P. Ovarian and endocrine characteristics during the estrous cycle in Angus, Brahman and Senepol cows in a subtropical environment. **Journal Animal Science**, v.78, n.5, p.1291-1302, 2000.

BARROS, C.M., FIGUEIREDO, R.A., PINHEIRO, O.L. Estro, ovulação e dinâmica folicular em Zebuínos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.19, n. 1-2 p.9-12, 1995.

BARUSELLI, P. S., BATISTA, E. O. S., VIEIRA, L. M., & SOUZA, A. H. Relationship between follicle population, AMH concentration and fertility in cattle. **Animal Reproduction (AR)**, 12(3), 487-497, 2018.

BARUSELLI, P. S., RODRIGUES, C. A., FERREIRA, R. M., SALES, J. N. S., ELLIFF, F. M., SILVA, L. G., ... & D'OCCHIO, M. J. Impact of oocyte donor age and breed on in vitro embryo production in cattle, and relationship of dairy and beef embryo recipients on pregnancy and the subsequent performance of offspring: A review. **Reproduction, Fertility and Development**, 34(2), 36-51, 2021.

BATISTA, E. O. S., MACEDO, G. G., SALA, R. V., ORTOLAN, M. D. D. V., SÁ FILHO, M. F. D., DEL VALLE, T. A., ... & BARUSELLI, P. S. Plasma antimullerian hormone as a predictor of ovarian antral follicular population in *Bos indicus* (Nelore) and *Bos taurus* (Holstein) heifers. **Reproduction in Domestic Animals**, 49(3), 448-452, 2014.

BATISTA, O.S.; SALA, R.V.; ORTOLAN, M.D.D.V.; JESUS, E.F., DEL VALLE, T.A.; RENNÓ, F.P., MACABELLI, C.H.; CHIARATTI, M.R.; SOUZA, A.H.; BARUSELLI, P.S. Hepatic mRNA expression of enzymes associated with progesterone metabolism and its impact on ovarian and endocrine responses in Nelore (*Bos indicus*) and Holstein (*Bos taurus*) heifers with differing feed intakes. **Theriogenology**. v.143, p.113-122, 2020.

BRADLEY, J., & SWANN, K. Mitochondria and lipid metabolism in mammalian oocytes and early embryos. **International Journal of Developmental Biology**, 63(3-4-5), 93-103, 2019.

CAMARGO, L. D. A., VIANA, J. H. M., SÁ, W. D., FERREIRA, A. D. M., RAMOS, A. D. A., & VALE FILHO, V. R. Factors influencing in vitro embryo production. **Animal Reproduction (AR)**, 3(1), 19-28, 2018

DOS SANTOS, E. C., BOYER, A., ST-JEAN, G., JAKUC, N., GÉVRY, N., PRICE, C. A., & ZAMBERLAM, G. Is the hippo pathway effector yes-associated protein a potential key player of dairy cattle cystic ovarian disease pathogenesis? **Animals**, 13(18), 2851, 2023.

DAS, PRADIP KUMAR; MUKHERJEE, JOYDIP; BANERJEE, DIPAK. Female reproductive physiology. **In:** Textbook of veterinary physiology. Singapore: Springer Nature Singapore, p. 513-568, 2023.

DE ANDRADE MELO-STERZA, F., & POEHLAND, R. Lipid metabolism in bovine oocytes and early embryos under in vivo, in vitro, and stress conditions. **International journal of molecular sciences**, 22(7), 3421, 2021.

DE LIMA MOSCHINI, G. A., GAITKOSKI, D., DE ALMEIDA, A. B. M., HIDALGO, M. M. T., MARTINS, M. I. M., BLASCHI, W., & BARREIROS, T. R. R. Comparison between in vitro embryo production in *Bos indicus* and *Bos taurus* cows. **Research, Society and Development**, 10(7), e38810716712-e38810716712, 2021.

DEMETRIO, D. G. B., BENEDETTI, E., DEMETRIO, C. G. B., FONSECA, J., OLIVEIRA, M., MAGALHAES, A., & SANTOS, R. M. D. How can we improve embryo production and pregnancy outcomes of Holstein embryos produced in vitro? (12 years of practical results at a California dairy farm). **Animal reproduction**, 17(3), e20200053, 2020.

FERRÉ, L. B., KJELLAND, M. E., STRØBECH, L. B., HYTTEL, P., MERMILLOD, P., & ROSS, P. J. Recent advances in bovine in vitro embryo production: reproductive biotechnology history and methods. **Animal**, 14(5), 991-1004. 2020.

GALINA, C.S., ARTHUR, G.H. Review on cattle reproduction in the tropics. Part. 4.Oestrus cycles. **Animal Breeding Abstracts**, v.58, n.8, p.697-707, 1990

GIMENES, L.U.; FERRAZ, M.L.; FANTINATO NETO, P.; CHIARATTI, R.; MESQUITA, L.G.; SÁ FILHO, M.F.; MEIRELLES, F.V.; TRINCA, L.A.; RENNÓ, F.P.; WATANABE, Y.F.; BARUSELLI, P.S. The interval between the emergence of pharmacologically synchronized ovarian follicular waves and ovum pickup does not significantly affect in vitro embryo production in *bos indicus*, *Bos taurus*, and *bubalus bubalis*. **Theriogenology**, v.83, n.3, p.385- 393, 2015.

GINTHER, O. J.; KNOPF, L.; KASTELIC, J. P. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two and three follicular waves. **J. Reprod. Fert.**, v. 8, p. 223-230, 1989.

GUIMARÃES, A.S.B; ROCHA, L.F.; JESUS, R.D.L.; VASCONCELOS, G.L.; ANGHINONI, G.; SANTANA, A.L.A.; BARBOSA, L.P. In vitro performance os Zebu (*bos indicus*) and Taurus (*Bos taurus*) donor cow embryos. **Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.**, Salvador, v.21, 2020. HAFEZ, Elsayed Saad Eldin; HAFEZ, B. Reprodução animal. **São Paulo: Manole**, 2004.

HAN, S., WEI, Y., WEI, Y., ZHAO, X., CHEN, Y., CUI, C., ... & YIN, H. Mechanisms of programmed cell death in livestock follicular development and atresia: a review. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 16, n. 1, p. 109, 2025

KÖNIG, Horst Erich; LIEBICH, Hans-Georg. Anatomia dos Animais Domésticos-: Texto e Atlas Colorido. Porto Alegre: **Artmed Editora**, 2016.

KUMARESAN, A., ELANGO, K., DATTA, T. K., & MORRELL, J. M. Cellular and molecular insights into the etiology of subfertility/infertility in crossbred bulls (*Bos taurus*× *Bos indicus*): A review. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, 9, 696637. 2021.

KUMARESAN, A., ELANGO, K., DATTA, T. K., & MORRELL, J. M. Cellular and molecular insights into the etiology of subfertility/infertility in crossbred bulls (*Bos taurus*× *Bos indicus*): A review. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, 9, 696637, 2021.

LEÃO, B. C., ROCHA-FRIGONI, N. A., CABRAL, E. C., FRANCO, M. F., FERREIRA, C. R., EBERLIN, M. N., ... & MINGOTI, G. Z. Membrane lipid profile monitored by mass spectrometry detected differences between fresh and vitrified in vitro-produced bovine embryos. **Zygote**, 23(5), 732-741, 2015.

LIZARRAGA, R. M., ANCHORDOQUY, J. M., GALARZA, E. M., FARNETANO, N. A., CARRANZA-MARTIN, A., FURNUS, C. C., ... & ANCHORDOQUY, J. P. Sodium selenite improves in vitro maturation of *bos primigenius taurus* oocytes. **Biological trace element research**, 197(1), 149-158, 2020.

LUEDKE, F. E., LAVACH, F. L., CASSANTA, F. G., DO NASCIMENTO NUNES, L. F., SCHLOTEFELD, C., DE PAIVA, S. M., ... & NEVES, A. P. Aspectos da produção in vitro de embriões bovinos no Brasil–revisão. **Pesquisa agropecuária gaúcha**, 25(1/2), 120-132, 2019.

LUSTOSA, A. A., BARBOZA, N. A., BARBOSA, Y. G. D. S., RODRIGUES, P. K. O., & NETO, F. D. C. R. M. Aspectos relevantes na produção comercial de embriões bovinos por meio da técnica biotecnológica de fertilização in vitro: Revisão. **Pubvet**, 12, 130, 2017.

MA, L., SHEN, W., ZHANG, J., MA, L., SHEN, W., SHEN, W., ... & ZHANG, J. The life cycle of the ovary. In: Ovarian aging. Singapore: Springer Nature Singapore, p. 7-33. 2023.

MARINHO, L. S. R., SANCHES, B. V., ROSA, C. O., TANNURA, J. H., RIGO, A. G., BASSO, A. C., ... & SENEDA, M. M. Pregnancy rates to fixed embryo transfer of vitrified IVP *Bos indicus*, *Bos taurus* or *Bos indicus*× *Bos taurus* embryos. **Reproduction in Domestic Animals**, 50(5), 807-811, 2015.

MENEGHEL, M., DALL'ACQUA, P. C., AMBROGI, M., LEÃO, B. C., ROCHA-FRIGONI, N. A., & MINGOTI, G. Z. Lipid content and cryotolerance of in vitro-produced bovine embryos treated with forskolin before vitrification. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 37(04), 395-400, 2017.

MUKASA-MUGERMA , E. A. Review of reproductive performance of female *Bos indicus* (Zebu) cattle. **ILCA Monografic**. v.6, p.1-34, 1989.

NOGUEIRA, BGR, DE SOUZA, LFA, PUELKER, RZ, GIOMETTI, IC, FIRETTI, SMG, DIAS, TSDBS, & CASTILHO, C. Fatores que afetam a produção in vitro de embriões bovinos em um programa comercial. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, 10 (2), e16110212264-e16110212264, 2021.

OLIVEIRA, C.L.; SARAPIÃO, R.V.; ROMANO QUINTÃO, C.C. Biotécnicas da Reprodução em Bovinos. **Embrapa Gado de Leite**, 2014.

ORISAKA, M., MIYAZAKI, Y., SHIRAFUJI, A., TAMAMURA, C., TSUYOSHI, H., TSANG, B. K., & YOSHIDA, Y. The role of pituitary gonadotropins and intraovarian regulators in follicle development: A mini-review. **Reproductive medicine and biology**, 20(2), 169-175. 2021.

PÉREZ-MORA, A., SEGURA-CORREA, J. C., & PERALTA-TORRES, J. A. Factors associated with pregnancy rate in fixed-time embryo transfer in cattle under humid-tropical conditions of México. **Animal Reproduction**, 17(2), e20200007, 2020.

PINHEIRO, O.L., BARROS, C.M., FIGUEIREDO, R.A., VALLE, E.R., ENCARNÇÃO, R.O., PADOVANI, C.R. Estrous behavior and the estrus-to-ovulation interval in Nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with prostaglandin F₂ or norgestomet and estradiol valerate. **Theriogenology**, v.49, p.667-81, 1998.

PIOLTINE, E. M., COSTA, C. B., BARBOSA LATORRACA, L., FRANCHI, F. F., DOS SANTOS, P. H., MINGOTI, G. Z., ... & NOGUEIRA, M. F. G. Treatment of in vitro-matured bovine oocytes with tauroursodeoxycholic acid modulates the oxidative stress signaling pathway. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, 9, 623852, 2021.

PONTES, J. H. F., NONATO-JUNIOR, I., SANCHES, B. V., ERENO-JUNIOR, J. C., UVO, S., BARREIROS, T. R. R., ... & SENEDA, M. M. Comparison of embryo yield and pregnancy rate between in vivo and in vitro methods in the same Nelore (*Bos indicus*) donor cows. **Theriogenology**, 71(4), 690-697, 2009.

PONTES, J. H. F., SILVA, K. C. F., BASSO, A. C., RIGO, A. G., FERREIRA, C. R., SANTOS, G. M. G., ... & SENEDA, M. M. Large-scale in vitro embryo production and pregnancy rates from *Bos taurus*, *Bos indicus*, and *indicus-taurus* dairy cows using sexed sperm. **Theriogenology**, 74(8), 1349-1355, 2010.

RICHARD, S., ZHOU, Y., JASONI, C. L., & PANKHURST, M. W. Ovarian follicle size or growth rate can both be determinants of ovulatory follicle selection in mice. **Biology of reproduction**, v. 110, n. 1, p. 130-139, 2024.

ROTAR, L. N., SOUZA, J. F., & SOUZA, J. F. Morphological characteristics of the oocyte-cumulus complexes *bos taurus* and *bos indicus* of different purpose productivity. **Rossiiskaia selskokhoziaistvennaia nauka**, (3), 64-67, 2019.

SALEK, F., GUEST, A., JOHNSON, C., KASTELIC, J. P., & THUNDATHIL, J. Factors Affecting the Success of Ovum Pick-Up, In Vitro Production and Cryopreservation of Embryos in Cattle. **Animals**, 15(3), 344, 2025.

SALES, J. N. D. S., IGUMA, L. T., BATISTA, R. I. T. P., QUINTÃO, C. C. R., GAMA, M. A. S., FREITAS, C., ... & BARUSELLI, P. S. Effects of a high-energy diet on oocyte quality and in vitro embryo production in *Bos indicus* and *Bos taurus* cows. **Journal of dairy science**, 98(5), 3086-3099, 2015.

SARTORI, R.; GIMENES, L.U.; MONTEIRO, P.L.J.; MELO, L.F.; BARUSELLI, P.S.; BASTOS, M.R. Metabolic and endocrine differences between *Bos taurus* and *Bos indicus* females that impact the interaction of nutrition with reproduction. **Theriogenology**, v.86, n.1, p.32-40, 2016.

SARWAR, Z., SAAD, M., SALEEM, M., HUSNAIN, A., RIAZ, A., & AHMAD, N. Effect of follicle size on oocytes recovery rate, quality, and in-vitro developmental competence in *Bos indicus* cows. **Animal Reproduction**, 17, e20200011, 2020.

SILVA, J. R., MEDEIROS, C. F., SOUZA-CÁCERES, M. B., GHELLER, J. M., SILVA, W. A. L., SANTOS, J. V., ... & MELO-STERZA, F. A. Relationships between antral follicle counts and ovarian morphology of *Bos indicus* of different ages. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 74, 983-991, 2023.

SILVA-SANTOS, K. C.; SANTOS, G. M.; SILOTO, L. S.; HERTEL, M. F.; ANDRADE, E. R.; RUBIN, M. I.; STURION, L.; MELO-STERZA, F. A.; SENEDA, M. M. Estimate of the population of preantral follicles in the ovaries of *Bos taurus indicus* and *Bos taurus taurus* cattle. **Theriogenology**, v. 76, n. 6, p. 1051-1057, 2011.

SIROIS, J., FORTUNE, J.E. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. **Biology Reproduction**, v.39, p.308-17, 1988.

SUDANO, M. J., CAIXETA, E. S., PASCHOAL, D. M., MARTINS, A., MACHADO, R., BURATINI, J., & LANDIM-ALVARENGA, F. D. Cryotolerance and global gene-expression patterns of *Bos taurus indicus* and *Bos taurus taurus* in vitro-and in vivo-produced blastocysts. **Reproduction, Fertility and Development**, 26(8), 1129-1141, 2014.

WRIGHT, P.J., MALMO, J. Pharmacological manipulation of fertility. **Applied Food Animal Practice**, v.8 p.57-59, 1992.

YUSUF, A. M). Promise of In vitro Embryo Production Technology for Improvement of Cattle Reproductive Potential. **EAS Journal of Veterinary Medical Science**, 6(2), 44-58. 2024.

ZANGIROLAMO, A. F., MOROTTI, F., DA SILVA, N. C., SANCHES, T. K., & SENEDA, M. M. Ovarian antral follicle populations and embryo production in cattle. **Animal Reproduction**, 15(3), 310, 208.