



B1

ISSN: 2595-1661

ARTIGO ORIGINAL

Listas de conteúdos disponíveis em [Portal de Periódicos CAPES](#)

Revista JRG de Estudos Acadêmicos

Página da revista:

<https://revistajrg.com/index.php/jrg>

ISSN: 2595-1661

Revista JRG de
Estudos Acadêmicos

Seleção e classificação de oócitos bovinos *post mortem*

Selection and classification of post bovine oocytes

DOI: 10.55892/jrg.v7i14.1219

ARK: 57118/JRG.v7i14.1219

Recebido: 20/05/2024 | Aceito: 19/06/2024 | Publicado *on-line*: 20/06/2024

Kaathlin Jessie Webler Barboza¹

<https://orcid.org/0009-0000-3273-0911>

<https://lattes.cnpq.br/5944177407453392>

Centro Universitário Dinâmica das Cataratas, Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil.

E-mail: kaathlin2001@gmail.com

Caroline Pereira da Costa²

<https://orcid.org/0000-0003-3021-6411>

<http://lattes.cnpq.br/0880253645444625>

Centro Universitário Dinâmica das Cataratas, Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil.

E-mail: caroline.costa@udc.edu.br



Resumo

A produção *in vitro* de embriões (PIVE) possibilitou avanços no melhoramento genético dos rebanhos animais, por promover a utilização do material genético de uma única fêmea doadora de oócitos para a fertilização *in vitro* (FIV), formando embriões que serão transferidos em diversas receptoras mantendo a genética da doadora, o que conseqüentemente, reduz os intervalos de tempo entre as gerações. Existem algumas etapas que são necessárias para a realização da PIVE, como a aspiração folicular (OPU), classificação de oócitos, FIV e transferência de embriões (TE). Neste estudo, objetivou-se identificar e classificar os oócitos viáveis para serem maturados e fertilizados, de acordo com o seu grau qualitativo, sendo estes grau I, grau II, grau III, grau IV e grau V, onde o grau I evidencia gametas de maior qualidade e grau V gametas de menor qualidade. Foram utilizados 70 ovários obtidos de um abatedouro comercial da cidade de Santa Terezinha do Itaipu – PR, que foram transportados para o laboratório de Análises Clínicas do Centro Universitário Dinâmica das Cataratas, na cidade de Foz do Iguaçu – PR. Os ovários foram transportados em solução salina a 0,9%, numa temperatura de 35 a 37°C e após, foram aspirados para obtenção dos oócitos, que então foram classificados de acordo com a qualidade apresentada. 278 oócitos puderam ser recuperados e em maior quantidade, evidenciaram-se oócitos de grau V, sendo 31,65% do volume obtido, totalizando 88 oócitos. Em menor quantidade, 10,43% dos oócitos foram classificados em grau I, totalizando 29 estruturas. A qualidade dos oócitos pode variar de acordo com vários fatores como a idade das doadoras, raça e período reprodutivo, o transporte dos ovários, o tempo desde o abate até a coleta e aspiração e a habilidade de aspiração dos folículos.

Palavras-chave: Bovinos. Embriões. Ovócitos. PIVE.

¹ Graduanda em Medicina Veterinária pelo Centro Universitário Dinâmica das Cataratas, UDC, Brasil

² Médica Veterinária pelo Centro Universitário Dinâmica das Cataratas, Foz do Iguaçu-PR. Mestre em Ciência Animal pelo programa de Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo-USP, São Paulo-SP. Atualmente, é docente no Centro Universitário Dinâmica das Cataratas.

Abstract

In vitro embryo production (IVEP) has enabled advances in the genetic improvement of animal herds by promoting the use of the genetic material of a single female oocyte donor for in vitro fertilization (IVF), forming embryos that will be transferred to several recipients while maintaining the donor's genetics, which consequently reduces the time intervals between generations. There are a number of steps required to carry out IVP, such as follicular aspiration, oocyte classification, IVF and embryo transfer (ET). The aim of this study was to identify and classify viable oocytes to be matured and fertilized according to their quality grade, namely grade I, grade II, grade III, grade IV and grade V, where grade I shows higher quality gametes and grade V lower quality gametes. We used 70 ovaries obtained from a commercial slaughterhouse in the city of Santa Terezinha do Itaipu - PR, which were transported to the Clinical Analysis laboratory of the Centro Universitário Dinâmica das Cataratas, in the city of Foz do Iguaçu - PR. The ovaries were transported in a 0.9% saline solution at a temperature of 35 to 37°C and then aspirated to obtain the oocytes, which were then classified according to their quality. 278 oocytes were recovered and the largest number of grade V oocytes were found, accounting for 31.65% of the volume obtained, totaling 88 oocytes. In smaller quantities, 10.43% of the oocytes were classified as grade I, totaling 29 structures. The quality of the oocytes can vary according to various factors such as the age of the donors, breed and reproductive period, the transportation of the ovaries, the time from slaughter to collection and aspiration and the ability to aspirate the follicles.

Keywords: Cattle. Embryos. Oocytes. PIVE.

1. Introdução

O Brasil conta com um rebanho de 234.352.649 milhões de bovinos e totalizou 2.540.567 de toneladas de carne exportada nos últimos anos (IBGE, 2022; ABIEC, 2022), com o aumento gradativo do crescimento dos rebanhos brasileiros e o aumento da exportação, a produção *in vitro* de embriões (PIVE) bovinos cresce junto (DE DEUS, 2017). Para suprir as necessidades do mercado quanto a quantidade e qualidade, o pecuarista que tem como objetivo aumentar a eficiência reprodutiva de seus rebanhos, lança mão de investimentos em melhoramento genético juntamente com as biotecnologias da reprodução (GOUVEIA, 2011).

Em 1982 nasceu e se desenvolveu normalmente o primeiro bezerro produzido através do processo de fertilização *in vitro* (FIV) (BRACKETT et al., 1982), porém com o financiamento das empresas Beabisa Agricultura LTDA e Gretec Tecnologia de Embriões para o fundo de inovações tecnológica deu início a comercialização no ano de 1998 (GALLI, 2003). As técnicas de PIVE na espécie bovina são aprimoradas constantemente devido as altas demandas de embrião pelo mercado da pecuária, o que torna a biotécnica um destaque no cenário mundial da reprodução animal, ultrapassando as outras biotecnologias reprodutivas (DAYAN, 2001). A utilização da PIVE permitiu que fosse encurtado o tempo do melhoramento genético em até 10 anos, pois possibilita explorar ao máximo o potencial reprodutivo das fêmeas bovinas de alto valor zootécnico e com isso, reduz os intervalos que existem entre as gerações e eleva o número de descendentes (DA SILVA et al., 2015; DE SOUZA, 2018).

A PIVE é composta por diversas etapas as quais irão influenciar de maneira direta no resultado final, nessas etapas estão a aspiração folicular – colheita oocitária – e a seleção de oócitos imaturos, maturação dos oócitos *in vitro* (MIV), fertilização dos oócitos maturados com espermatozoides que foram capacitados e desenvolvidos *in vitro* (FIV) e depois, a transferência dos embriões a fresco ou a criopreservação

(VARAGO et al., 2008). A colheita oocitária possibilita a obtenção dos oócitos em grandes quantidades (MACHATY et al., 2012). Existem algumas maneiras de coletar oócitos bovinos, podendo ser *in vivo* através da *Ovum Pick Up*, conhecida como aspiração folicular (OPU) a qual é realizada guiada por ultrassom com o auxílio de um transdutor vaginal, que irá perfurar os ovários e coletar os oócitos (GONÇALVES et al., 2008) ou ainda, pode ser realizada *post mortem* no laboratório. Para isso, os ovários devem ser transportados em solução salina a 0,9% em uma temperatura de 35 a 37°C, no laboratório a aspiração pode ser realizada com uma agulha 21 G acoplada a uma seringa de 5,0 mL (SANTOS et al., 2017).

Após ser realizada a colheita dos oócitos o seguinte passo é rastrear e então classificar os oócitos, para classifica-los devem ser avaliados o aspecto morfológico dos complexos cumulus-oócitos (CCO). Viana et al (2004) descreveu cinco graus de qualidade oocitária e segue alguns critérios os quais são avaliados para decidir se o oócito poderá ser levado a maturação e fertilização. Esses graus são: Grau I: O CCO é compactado e possui mais de três camadas de células do cumulus e os oócitos tem o citoplasma homogêneo. O núcleo apresenta uma coloração clara e aparente; Grau II: O CCO é compactado e possui três ou menos camadas de células do cumulus e os oócitos tem o citoplasma ligeiramente heterogêneo; Grau III: Halo transparente ao redor do ovócito e parcialmente desnudos; Grau IV: Desnudos e com cúmulos expandido ao redor do oócito; Grau V: Atrésico, não apresentam células do cúmulos e podem apresentar granulações. Mariano et al, (2015) e Penitente Filho (2011) afirmam que os oócitos classificados como Grau I e II são os ideais para serem maturados e fertilizados pois tem maior probabilidade de progredirem a um embrião e o Grau III pode ser utilizado em casos que forem recuperados poucos oócitos, porém apresentam baixa taxa de viabilidade, Grau IV e V são descartados pois não são viáveis

Existem inúmeros fatores que podem contribuir para a redução da taxa de produção de embriões *in vitro*, como a obtenção dos oócitos imaturos *in vivo* ou *post mortem*, o transporte dos oócitos até o laboratório e a má seleção dos oócitos (GOTTARDI; MINGOTI, 2009). Em caso de oócitos que são oriundos de abatedouros, existem várias variáveis que podem interferir na qualidade das estruturas (BATISTA et al., 2016). O presente estudo tem como objetivo acompanhar e realizar, respectivamente, a coleta e a aspiração folicular de ovários oriundos de um abatedouro comercial localizado na região oeste do estado do Paraná, afim de se obter oócitos imaturos para posterior avaliação e classificação das estruturas, evidenciando se as células são compatíveis e viáveis para o processo de maturação e fertilização, de acordo com os graus citados anteriormente e utilizados como referência na PIVE.

2. Metodologia

2.1 Protocolo experimental

Esse estudo foi aprovado pelo comitê de ética e pesquisa, ensino e experimentação animal do centro universitário dinâmica das cataratas – CEPEEEA – UDC, registrado com o n ° 2024.1.02036. O estudo foi conduzido no laboratório de Análises Clínicas do Centro Universitário Dinâmica das Cataratas.

2.2 Obtenção dos ovários

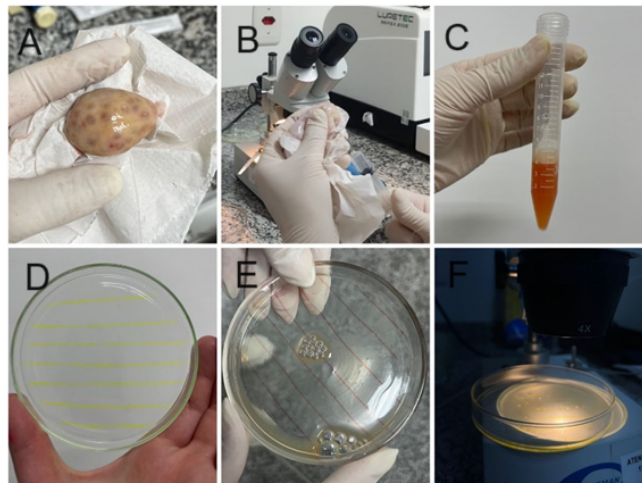
Os ovários de fêmeas bovinas foram coletados em um abatedouro comercial da cidade de Santa Terezinha de Itaipu, Paraná, as coletas dos mesmos foram

realizadas por colaboradores do próprio abatedouro sem a realização de um treinamento prévio. As estruturas foram transportadas em solução salina a 0,9% (NaCl 0,9%) a uma temperatura de 35 a 37 °C, conforme descrito por Santos et al., (2017). A aspiração foi realizada em um período máximo de até 4 horas após a coleta. Foram utilizados ovários de diversas raças e idades de bovinos conforme disponível no abatedouro. Foram coletados três grupos de ovários, sendo: Grupo 1 com 20 ovários; Grupo 2 com 20 ovários; Grupo 3 com 30 ovários.

2.3 Obtenção dos oócitos

Os ovários para a aspiração foram manipulados com luva de procedimento e secos com papel toalha. Para aspirar os folículos foram utilizadas seringas de 5mL acopladas em agulhas 25x0,70mm. Os conteúdos aspirados foram depositados em tubos Falcon de 15mL, após isso o conteúdo no fundo do tubo foi coletado com uma micropipeta de 1000ul e depositado em uma placa de petri. Na face externa da placa de petri foram desenhadas linhas verticais para ajudar no rastreamento, os oócitos foram rastreados, coletados e depositados em uma segunda placa de petri onde foram classificados.

Figura 1: Processo de aspiração folicular. A – Ovário bovino com folículos. B – Aspiração dos folículos com seringa de 5mL e agulha 25x0,70mm. C – Fluido aspirado dos folículos contendo os oócitos. D – Placa preparada para o rastreamento. E – Fluido folicular. F – Rastreamento dos oócitos.



2.4 Classificação dos oócitos

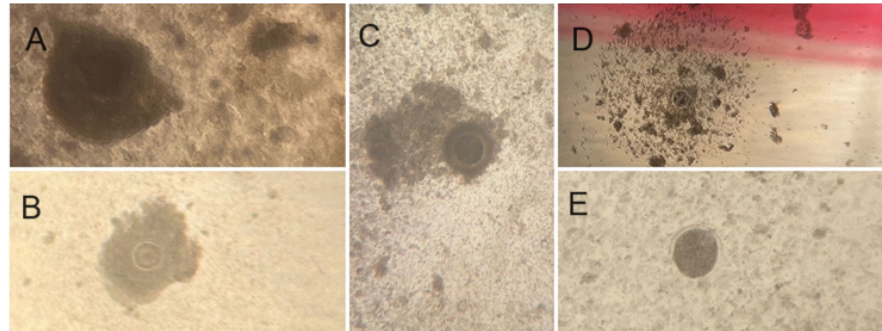
Para a classificação foi utilizada a metodologia de Viana et al (2004) o qual foi mencionado por Marino et al (2015) que descreveram 5 graus para a classificação, conforme descrito na introdução.

Os oócitos são classificados de acordo com citoplasma e o número de camadas de células do *cumulos* segundo os critérios a seguir:

- Grau I: O CCO é compactado e possui mais de três camadas de células do cumulus e os oócitos tem o citoplasma homogêneo. O núcleo apresenta uma coloração clara e aparente;
- Grau II: O CCO é compactado e possui três ou menos camadas de células do cumulus e os oócitos tem o citoplasma ligeiramente heterogêneo;
- Grau III: Halo transparente ao redor do ovócito e parcialmente desnudos;
- Grau IV: Desnudos e com cúmulos expandido ao redor do oócito;

- Grau V: Atrésico, não apresentam células do *cúmulos* e podem apresentar granulações.

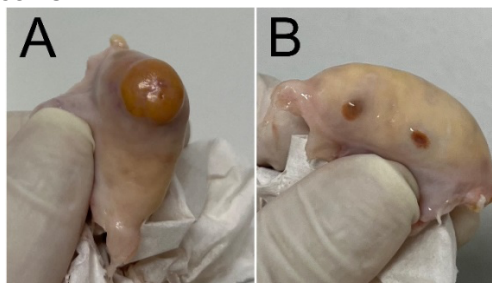
Figura 2: Oócitos classificados de acordo com as células do *cúmulos*. A – Oócito Grau I. B – Oócito Grau II. C – Oócito Grau III. D – Oócito Grau IV. E – Oócito Grau V.



3. Resultados

Foram coletados três grupos de ovários no abatedouro em três dias diferentes, os mesmos eram de fêmeas de diferentes idades e raças, conforme a disponibilidade do abatedouro, com isso, alguns ovários apresentavam corpo albicans indicando possíveis e antigas gestações e corpo lúteo (Figura 3), como também alguns ovários não apresentavam nenhum dos dois. Os ovários foram divididos em grupos conforme a data da coleta, sendo: Grupo 1, primeira coleta com 20 ovários, Grupo 2 segunda coleta com 20 ovários e Grupo 3 última coleta com 30 ovários.

Figura 3: Ovário coletado. A – Ovário com presença de corpo lúteo. B – Ovário com presença de corpo albicans.



A primeira coleta foi realizada no dia 2 de maio de 2024, foram coletados e aspirados 20 ovários, que possibilitaram a obtenção de 65 oócitos. A segunda coleta foi realizada no dia 7 de maio de 2024 com um total de 20 ovários e 90 oócitos recuperados. A terceira e última coleta foi realizada no dia 8 de maio de 2024 com um total de 30 ovários coletados e aspirados, sendo a maior quantidade, totalizando ao final do rastreamento, 123 oócitos recuperados.

Após cada coleta, os ovários foram levados ao laboratório e aspirados com uma variação de tempo em cada coleta, o Grupo 1 chegou ao laboratório com 3 horas de coleta e então aspirados, o Grupo 2 foram aspirados 2:30 após a coleta e o Grupo 3 foi aspirado 2 horas após a coleta.

No total foram coletados 70 ovários e classificados 278 oócitos seguindo graus de I a V. No primeiro grupo a maior porcentagem foram de oócitos de grau III e a menor de grau I, o segundo grupo apresentou a maior quantidade em grau V e a menor em grau I e por último o terceiro grupo teve a maior quantidade de oócitos grau V e a menor quantidade de grau I (Tabela 1).

Tabela 1: Classificação e número de oócitos aspirados por grupos

Morfologia dos oócitos	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
Total	65	90	123
Grau I	13,84% (9)	8,8% (8)	9,75% (12)
Grau II	18,46% (12)	20% (18)	21,13% (26)
Grau III	27,69 (18)	21,11% (19)	17,07% (21)
Grau IV	16,92 (11)	21,11% (19)	13,82% (17)
Grau V	23,07 (15)	28,88% (26)	38,21% (47)

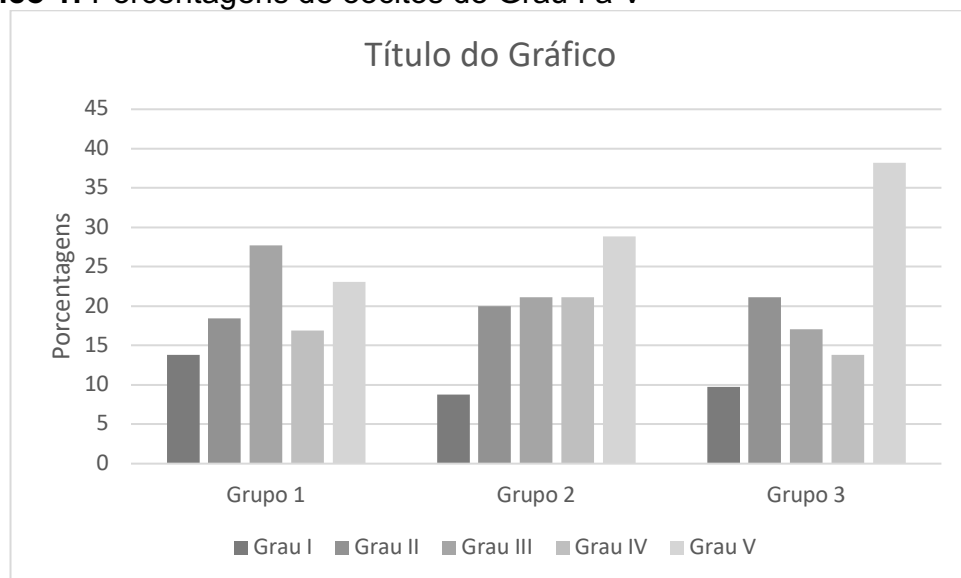
Os oócitos de grau V foram encontrados em maior quantidade com uma porcentagem de 31,63% e os de grau I foram encontrados em menor quantidade, sendo 10,43% (Tabela 2).

Tabela 2: Porcentagem do número total de oócitos classificados

Morfologia	Grau I	Grau II	Grau III	Grau IV	Grau V
% total	10,43% (29)	20,14% (56)	20,86% (58)	16,90% (47)	31,65% (88)

Como observado no gráfico a baixo (Gráfico 1) a porcentagem de oócitos Grau I é a menor, sendo os encontrado em menor quantidade em todos os grupos de ovários coletados.

Gráfico 1: Porcentagens de oócitos de Grau I a V



4. Discussão

Nesse trabalho foram avaliados e classificados os oócitos obtidos por aspiração folicular de ovários oriundos de abatedouros, as classificações foram em graus de I a V. Segundo Barreto (2020), quando se trata dos oócitos aspirados de ovários oriundo de abatedouros diversos fatores existentes podem afetar a viabilidade, quando não se tem um controle sanitário rigoroso, porém Bezerra et al, (2019) e Jerez (2018) afirmam que a utilização dos mesmos é efetiva, pois contribuem para a redução de custos e possibilitam o aproveitamento de oócitos que apresentam potencial e se tornariam atresícos no ciclo estral do animal.

Para ter uma melhor taxa de recuperação dos oócitos na hora da coleta existem diversos fatores que irão influenciar nesse processo. Raça, idade, período reprodutivo e condições experimentais – que envolve do processo de retirada ao transporte, chegada ao laboratório para aspiração e o tempo que se leva para realizar todo o processo – (BATISTA et al., 2016). No presente experimento não foi possível identificar a raça, idade exata e período reprodutivo dos animais os quais foram retirados os ovários, que pode ter influenciado nos resultados da quantidade e qualidade dos oócitos aspirados.

Valencia (2012) ressalta que o transporte dos ovários até o laboratório necessita de uma segurança e cuidado para que assim tenha uma menor taxa de variação de temperatura e se mantenha a melhor qualidade possível dos oócitos, evitando perdas durante a aspiração no laboratório. No trabalho realizado os ovários foram transportados em solução salina 0,9% (NaCl 0,9%) em uma temperatura de 35 a 37 °C, para evitar ao máximo que houvesse perda de temperatura e consequentemente, queda da qualidade dos oócitos.

Um número indeterminado de ovários coletados apresentava presença de corpo lúteo. Batista (2016) afirma que no ponto de vista morfológico, a presença de corpo lúteo não tem influência na qualidade dos oócitos imaturos, já Mamy et al (2017) afirma que a presença de corpo lúteo em ovários aspirados pode resultar em uma quantidade maior de oócitos inviáveis comparados a ovários que não apresentavam, assim tendo mais oócitos viáveis aspirados.

Para obter oócitos de qualidade durante o processo de aspiração é necessário fazer uso de materiais corretos e estéreis, desde agulha até a seringa, pois a pressão da aspiração pode causar danos ao CCOs dos oócitos, por isso, é indicado o uso de seringa de 5mL e agulhas 40x12 que permitem que haja melhor manipulação e menor pressão (ZAMORA, 2013), em concordância à literatura, foram utilizadas seringas de 5mL para o auxílio da aspiração, entretanto, as agulhas utilizadas neste trabalho foram 25x0,70mm.

Bolaños (2014) usou um microscópio óptico para realizar o rastreamento com auxílio da lente optativa de 40x. No presente trabalho foram realizados os rastreamentos e a classificação com o auxílio de uma lupa esteromicroscópica, assim como realizado por Batista et al (2016) e Barreto (2020) nos quais utilizaram uma lupa esteromicroscópica para o rastreamento com o aumento de 4x.

A destreza e habilidade manual na hora da aspiração e manipulação dos ovários trazem interferência na qualidade dos oócitos e principalmente nas CCOs dos oócitos coletados (BOLAÑOS, 2014; VALENCIA, 2012). A falta experiência prática na manipulação e aspiração pode ter sido um dos fatores para diminuição da qualidade dos oócitos e danos na CCOs dos mesmos, assim encontrando uma maior quantidade de oócitos grau V e baixa quantidade de oócitos grau I.

Barreto (2020) encontrou maior quantidade de oócitos de grau I em ovários oriundo de abatedouro e adquiridos pela técnica de aspiração folicular, Batista et al.,

(2016) utilizando a mesma técnica encontrou uma quantidade maior de oócitos grau III e Zamora (2013) encontrou em maior quantidade oócitos de grau II quando utilizou a técnica de aspiração. Neste trabalho os oócitos mais encontrados foram de grau V e os menos encontrados foram os de grau I respectivamente.

Erreis (2016) realizou uma comparação entre o método *slicing* e aspiração folicular para obtenção de oócitos *post mortem*, para classificação dos oócitos utilizou 4 graus de qualidade sendo o grau IV o de maior quantidade encontrado no método de aspiração e de *slicing*. Gomez et al (2012) utilizou das duas técnicas de obtenção dos oócitos e relata que em ambos métodos os oócitos de maior quantidade foram de grau I, contrariando o realizado por Erreis (2016).

Apesar de haver 5 graus de classificação de qualidade, somente os oócitos de grau I e II são considerados viáveis para a FIV, eles devem ter várias camadas de CCOs compactadas e o um citoplasma uniforme, para que seja avaliado posterior a maturação a expansão do *cumulus*. (BARRETO, 2020).

5. Conclusão

Com a aspiração folicular de ovários *post mortem* é possível obter oócitos viáveis para posteriormente serem maturados e fertilizados, a pouca experiência prática para a aspiração pode influenciar na qualidade dos oócitos, tendo em vista os resultados adquiridos neste trabalho. As diferenças de quantidade de oócitos aspirados por ovários podem ter sido pela diferença racial, de idade ou período reprodutivo das fêmeas abatidas, bem como o não treinamento da equipe de coleta do abatedouro, já que não foi possível ter um controle desses fatores. Com tudo, no presente trabalho foram recuperados um total de 278 oócitos, sendo 85 considerados viáveis, classificados em Grau I e II. O presente estudo demonstra a necessidade de treinamentos prévios dos colaboradores dos abatedouros e dos profissionais que realizam a aspiração folicular e o rastreamento dos oócitos, para que a coleta e manipulação dos ovários não influenciam negativamente no grau de qualidade dos gametas.

Referências

ABIEC – Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne. Beef Report: perfil da pecuária no Brasil 2022. ABIEC, 2022. 72p. Disponível em: <https://www.abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2022/>. Acesso em: 14 de abril de 2024.

AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA E NUCLEAR DE OÓCITOS BOVINOS IMATUROS, OBTIDOS DE OVÁRIOS COM E SEM A PRESENÇA DE CORPO LÚTEO. Colloquium Agrariae. ISSN: 1809-8215, [S. l.], v. 12, n. 2, p. 01–10, 2017. Disponível em: <https://revistas.unoeste.br/index.php/ca/article/view/1764>. Acesso em: 18 maio. 2024.

BATISTA, J. F.; SILVA, L. F. D.; LAZARI, L. P.; LEAL, M. D. C. D. O.; SOUZA, M. M. D.; GARCIA, S. M. Avaliação morfológica e nuclear de oócitos bovinos imaturos, obtidos de ovários com e sem a presença de corpo lúteo. Colloquium Agrariae, v. 12, n.2, p.01-05. 2016.

BEZERRA, A. D. O.; NICACIO, A. C.; MENEZES, G. R. D. O.; GOMES, R. D. C.; SILVA, L. O. C.; ROCHA-FRIGONI, N. A. D. S.; MINGOTI, G. Z. Comparison between

in vitro embryo production using Y-sorted sperm and timed artificial insemination with non-sorted sperm to produce crossbred calves. *Animal Reproduction Science*, v. 208, 106101. 2019.

BRACKETT, B. G.; BOUSQUET, D.; BOICE, M. L.; DONAWICK, W. J.; EVANS, J. F.; DRESSEL, M. A. Normal development following in vitro fertilization in the cow. *Biology of Reproduction*, v. 27, p. 147–158, 1982.

BOLAÑOS, D. K. S. Determinación de la viabilidad de ovocitos bovinos obtenidos post mortem a varios periodos de tiempo en el Camal Municipal de Tulcán. Tese de grado (Engenharia em Desenvolvimento Agropeauário) Universidad Politécnica Estatal del Carchi. 2015.

DA SILVA, J. S. et al. Aspectos comerciais da transferência de embriões e fertilização in vitro em bovinos - revisão. 2015.

DAYAN, A. Fatores que interferem na produção de embriões bovinos mediante aspiração folicular e fecundação in vitro. 2001. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2001.

DE DEUS, A. R. S. Influência do soro fetal bovino em diferentes meios durante o resfriamento de ovários sobre os parâmetros quanti-qualitativos de oócitos bovinos. 2017. 51 f. Dissertação (Curso de Biotecnologia) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Pró-Reitoria de Graduação, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Mossoró, RN, 2017.

DE SOUZA, N. S. Produção in vitro de embriões bovinos: etapas de produção e histórico no Brasil. *Ciência Veterinária UniFil*, v. 1, n. 3, 2018.

ERREIS, M. D. C. Comparación de dos métodos de recolección (slicing y aspiración folicular) de ovocitos bovinos obtenidos post mortem para la producción de embriones in vitro. Tese de grado (Medicina Veterinaria e Zootecnia). Universidad Nacional de Loja. 2016.

GALLI, C.; DUCHI, R.; CROTTI, G.; TURINI, P.; PONDERATO, N.; COLLEONI, S.; LAZZARI, G. Bovine embryo technologies. *Theriogenology*, v. 59, p. 599–616, 2003.

GOMEZ, O. E.; ALVA, G.; HUILLCAS, F. V.; SALINAS, D. Técnicas del slicing y aspiración folicular en la eficiencia de la recuperación de ovócitos bovinos criollos postmortem en el camal. *Spermova*, v. 2, n. 1, p. 38-39, 2012.

GONÇALVES, P. B. D.; OLIVEIRA, M. A. L.; MEZZALIRA, A.; MONTAGNER, M. M.; VISINTIN, J. A.; COSTA, L. F. S. Produção in vitro de embriões. In: GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. *Biotécnicas aplicadas à reprodução animal*. 2. ed. São Paulo: Varela, p. 340, 2008.

GOTTARDI, F. P.; MINGOTI, G. Z. Maturação de oócitos bovinos e influência na aquisição de competência para o desenvolvimento do embrião. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, v. 33, n. 2, p. 82-94, 2009.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Pesquisa Pecuária Municipal 2022. Rio de Janeiro: IBGE, 2022. Disponível em: https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2022_v50_br_informativo.pdf. Acesso em: 14 abr. 2024.

INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE CIÊNCIAS DA VIDA E DA NATUREZA (ILACVN). Biotecnologia avaliação da taxa de recuperação de ovócitos bovinos obtidos por aspiração folicular de ovários oriundos de abatedouro. Victoria María Barreto Jara. Foz do Iguaçu, 2020. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <https://dspace.unila.edu.br/server/api/core/bitstreams/2db8ce1b-39a7-4f84-b0fc-c9bba50e6bfe/content>. Acesso em: 17 maio. 2024.

JEREZ, E. R. M. Efecto del estatus ovárico sobre la producción in vitro de embriones bovinos. Dissertação (Mestrado em Reprodução Bovina). Universidad Nacional de Córdoba, 2018.

MACHATY, Z.; PEIPPO, J.; PETER, A. Production and manipulation of bovine embryos: techniques and terminology. *Theriogenology*, v. 78, p. 937–950, 2012.

MAMY, K.; ATIQA, N.; ARIANI, N. Effect of ovarian types and collection techniques on the number of follicles and the quality of cumulus-oocyte-complexes in cow. *Bangladesh Journal of Animal Science*, v. 45, n. 3, p. 10-16, 2017.

MARIANO, R. S. G.; USCATEGUI, R. A. R.; NOCITI, R.; BARROS, F. P. D. C.; RODRIGUEZ, M. G. K.; TAIRA, A. R.; FELICIANO, M. A. R.; VICENTE, W. R. R.; TEIXEIRA, P. P. M. Aspiração folicular em ruminantes – revisão de literatura. *Revista Investigação*, v. 14, n. 6, p. 46-53, 2015.

PENITENTE FILHO, J. M.; OLIVEIRA, F. A.; JIMENEZ, A. C. A. A. Produção de embriões bovinos in vivo e in vitro. Universidade Federal de Viçosa - Departamento de Zootecnia, 2011.

SANTOS, M. V. O.; QUEIROZ NETA, L. B.; BORGES, A. A.; PEREIRA, A. F. Influence of commercially available follicle stimulating hormone on the in vitro maturation of bovine oocytes. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 38, p. 1393–1402, 2017.

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA FACULDADE DE AGRONOMIA E VETERINÁRIA. Fernanda Ferreira Gouveia: A produção in vitro de embriões bovinos. Monografia apresentada para conclusão do. [s.l.: s.n.]. Disponível em: https://bdm.unb.br/bitstream/10483/1802/1/2011_FernandaFerreiraGouveia.pdf. Acesso em: 14 abr. 2024.

VALENCIA, G. E. D. Maduración in vitro de ovocitos colectados post mortem de ovarios de vacas Holstein Friesian y Jersey. 2012. Tese de Licenciatura. Universidad San Francisco de Quito, 2012.

VARAGO, F. C.; MENDONÇA, L. F.; LAGARES, M. A. Produção in vitro de embriões bovinos: estado da arte e perspectiva de uma técnica em constante evolução. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, v. 36, p. 100-109, 2008.

VIANA, J. H. M.; CAMARGO, L. S. DE A.; FERNANDES, C. A. C.; SA, W. F. JUNIOR, A. P. M. Short intervals between ultrasonographically guided follicle aspiration improve oocyte quality but do not prevent establishment of dominant follicles in the Gir breed (*Bos indicus*) of cattle. *Animal Reproduction Science*, v. 84, p. 1–12, 2004.

ZAMORA, L. A. R. Optimización del método de recuperación de ovocitos para la fecundación in vitro. Tese de Doutorado (Doutorado em Veterinária). Univesidad de Santiago de Compostela. 2013.