

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
ESCOLA DE CIÊNCIAS DA VIDA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

JOÃO FILIPI SCHEFFER PEREIRA

**ANÁLISE DA VARIAÇÃO DO NÚMERO DE OÓCITOS RECUPERADOS E SUA
ASSOCIAÇÃO COM A PRODUÇÃO *IN VITRO* DE EMBRIÕES EM *Bos indicus* e
*Bos taurus***

*(Analysis of variation of number of recovered oocytes and association with in vitro
production of embryos in Bos indicus and Bos taurus)*

CURITIBA

2019

JOÃO FILIPI SCHEFFER PEREIRA

ANÁLISE DA VARIAÇÃO DO NÚMERO DE OÓCITOS RECUPERADOS E SUA ASSOCIAÇÃO COM A PRODUÇÃO *IN VITRO* DE EMBRIÕES EM *Bos indicus* e *Bos taurus*

(Analysis of variation of number of recovered oocytes and association with in vitro production of embryos in Bos indicus and Bos taurus)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, área de concentração Saúde, Tecnologia e Produção Animal Integrada, da Escola de Ciências da Vida da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

Orientador: Profa. Dra. Cristina Santos Sotomaior

Coorientador: Prof. Dr. Saulo Henrique Weber

CURITIBA

2019

TERMO DE APROVAÇÃO
(Responsabilidade da Secretaria do PPGCA)

(Entregue pela secretaria)

SUMÁRIO

	Página
DEDICATÓRIA	vi
AGRADECIMENTOS.....	vii
FORMATO DA TESE.....	viii
RESUMO GERAL	xi
ABSTRACT	x
CAPÍTULO 1	1
INTRODUÇÃO E CONTEXTUALIZAÇÃO	1
CAPÍTULO 2.....	6
ARTIGO (ANÁLISE DA VARIAÇÃO DO NÚMERO DE OÓCITOS RECUPERADOS E SUA ASSOCIAÇÃO COM A PRODUÇÃO <i>in vitro</i> DE EMBRIÕES EM <i>Bos indicus</i> <i>e Bos taurus</i>).....	6
CAPÍTULO 3	49
CONSIDERAÇÕES FINAIS	49
REFERÊNCIAS.....	50
ANEXO	54

Dedicado aos meus pais:
Maria Carmem Scheffer Pereira
Nercino Faustino Pereira

AGRADECIMENTOS

Meus sinceros agradecimentos:

A Profa. Dra. Cristina Santos Sotomaior, por sua orientação ao longo destes quase 12 anos como discente PUCPR, compreensão e ensinamentos. Ao Prof. Saulo Henrique Weber pela dedicação, orientação e ensinamentos compartilhados.

Ao amigo MV. Maurício Barros Fernandes, por toda sua dedicação e colaboração para execução deste trabalho, por sua amizade, paciência e esmero em suas contribuições na minha formação.

Aos meus pais Maria Carmem S. Pereira e Nercino F. Pereira por todo carinho e compreensão, por entender a distância e mesmo assim reforçar o seu apoio ao meu crescimento profissional.

As amigas Anderlise Borsoi e Liédge Simioni Felício por todos os momentos de conselhos e descontração tornando mais leve as contingências do dia a dia.

A Milton L. S. Lino pelo incentivo na conclusão desta etapa, por me mostrar o tempo e as forças que aos meus olhos me faltava.

Aos amigos Francielly Peron e Telmo Tuon Albino pelo esmero em me mostrar a simplicidade em concluir essa etapa quando tudo parecia muito mais complicado.

A Pontifícia Universidade Católica do Paraná, pela oportunidade de estudo e isenção do curso.

A todos, o meu MUITO OBRIGADO!
João Filipi Scheffer Pereira

FORMATO DA TESE

A presente tese é composta por capítulos. O capítulo 1 apresenta uma introdução geral, a contextualização do tema e os objetivos de estudo. O capítulo 2 trata-se de artigo científico completo, contendo referências, e formatado nas normas da revista *Theriogenology*. O capítulo 3 finaliza esta tese com conclusões gerais e considerações finais deste trabalho e sugestões para estudos futuros. As referências do capítulo 1 encontram-se ao final da tese.

Resumo Geral

O Brasil possui o segundo maior rebanho bovino do mundo e se destaca entre os principais produtores de carne e leite. Aliado ao progresso genético do rebanho está a aplicação de biotecnologias da reprodução, como a aspiração folicular e a produção *in vitro* de embriões (PIVE). Atualmente, o Brasil é o segundo maior produtor mundial de embriões *in vitro*, sendo que 66% dos embriões produzidos no mundo são provenientes da tecnologia *in vitro*, com um crescimento em 2017 de 48,6% em comparação a 2016. O objetivo do presente trabalho foi avaliar, por meio de modelos matemáticos, o número de oócitos recuperados de vacas de raças taurinas e zebuínas e sua associação com o número e taxa de embriões, para análise da influência do comportamento destas variáveis na PIVE. Para tanto, o número de oócitos, número e taxa de embriões produzidos *in vitro* de 6306 sessões de aspiração folicular das raças Angus (232), Brahman (463), Gir (1115), Guzerá (191), Holandesa (967), Nelore (3123) e Tabapuã (215) foram analisados por meio de modelagem matemática (Gauss e Weibull). Os dados de cada raça foram estratificados por quartis (Q) crescentes do número de oócitos. As raças Brahman e Nelore apresentaram as maiores médias de número de oócitos e embriões ($p < 0,05$), enquanto a raça Angus apresentou as menores médias ($p < 0,05$) e as demais raças alternaram-se em posições intermediárias. As raças zebuínas apresentam maiores taxas de embriões ($p < 0,05$) que as taurinas. O número de oócitos e embriões difere ($p < 0,05$) entre os quartis em todas as raças, com exceção da raça Angus que não difere ($p > 0,05$) entre Q1 e Q2 para número de embriões. As raças Brahman e Holandesa não apresentaram diferença ($p > 0,05$) entre os quartis para taxa de embriões. Nas demais raças houve alternância no quartil com a maior taxa. As correlações observadas entre o número de oócitos e embriões foram altas e significativas ($p < 0,01$), variando de 0,61 a 0,83, em todas as raças. Considerando os quartis, as correlações foram significativas, exceto para as raças Angus (todos os quartis) e Tabapuã (Q2 e Q4). As correlações (no total) entre número de oócitos e taxa de embriões foram baixas e não significativas ($p > 0,05$) na maioria das raças, exceto Angus e Guzerá, que apresentaram valores baixos, positivos e significativos ($p < 0,05$). Nos quartis, foram significativas as correlações em Q1 e Q3 (Gir), e Q1 (Guzerá e Nelore). O modelo de Weibull apresentou ajuste significativo para a maioria das raças quanto ao número de oócitos e embriões, mas não foi aderente para taxa de embriões. Para número de oócitos e embriões, as raças Brahman e Tabapuã apresentaram tendência unimodal positiva; as demais raças apresentaram tendência exponencial negativa. A raça Angus apresentou tendência unimodal para número de oócitos e exponencial negativa para número de embriões. Em conclusão, a recuperação de oócitos pode ser utilizada como critério na seleção de doadoras, definindo por meio do modelo qual o intervalo de número de oócitos e embriões que propiciam as maiores taxas de embriões produzidos.

Palavras-chave: oócitos, modelagem matemática, raças

Abstract

Brazil has the second largest cattle herd in the world and stands out among the main meat and milk producers. Coupled with the genetic progress of the herd is the application of reproductive biotechnologies such as follicular aspiration and in vitro embryo production (IVP). Currently Brazil is the second largest producer of in vitro embryos in the world, with 66% of embryos produced in the world coming from in vitro technology. The growth in 2017 was 48.6% compared to 2016. The objective of the present study was to evaluate, through mathematical models, the number of oocytes of the taurine and zebuine breeds and their association with the number and rate of embryos, to analyze the influence of the behavior of these variables on IVP. For this, the number of oocytes, number and rate of in vitro produced embryos of 6306 follicular aspiration sessions of Angus (232), Brahman (463), Gir (1115), Guzera (191), Dutch (967), Nelore (3123) and Tabapuã (215) were analyzed by mathematical modeling (Gauss and Weibull). Data for each breed were stratified by quartiles (Q) of oocyte numbers. Brahman and Nelore breeds presented the highest numbers of oocytes and embryos ($p < 0.05$), while the Angus breed had the lowest numbers ($p < 0.05$) and the other breeds alternated in intermediaries positions. Zebuine breeds have higher embryo rates ($p < 0.05$) than taurines. The number of oocytes and embryos differ ($p < 0.05$) between quartiles in all breeds, except the Angus breed which are not different ($p > 0.05$) between quartiles 1 and 2 for the number of embryos. Brahman and Holstein breeds showed no difference ($p > 0.05$) between quartiles for embryo rate. In the other breeds there was alternation in the quartile with the highest rates. Correlations between the number of oocytes and embryos were high and significant ($p < 0.01$), varying from 0,61 to 0,83, in all the breeds. Concerning the quartiles correlations were significant ($p < 0.05$) except for the Angus (all quartiles) and Tabapuã (Q2 and Q4) breeds. Correlations (in total) between oocyte number and embryo rate were low and were not significant ($p > 0.05$) in most breeds except Angus and Guzerá, which showed low, positive and significant values ($p < 0.05$). In quartiles, correlations between Q1 and Q3 (Gir) and Q1 (Guzerá and Nelore) were significant ($p < 0.05$). The Weibull model presents a significant adjustment for most breeds in the number of oocytes and embryos but was not adherent to embryo rates. For number of oocytes and embryos, breeds such as Brahman and Tabapuã showed positive unimodal tendency; other breeds presented negative exponential trend. The Angus breed showed a unimodal tendency for oocyte number and negative exponential for number of embryos. In conclusion, follicular aspiration can be used as donor selection by defining through the model which range of number of oocytes and embryos provide the highest rates of embryos used.

Keyword: oocytes, mathematical modeling, breeds

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO E CONTEXTUALIZAÇÃO

A América do Sul é responsável por aproximadamente 24% da população mundial bovina (FAO, 2017). No Brasil, os esforços por produção de carne e leite têm sido evidenciados, principalmente em mercados especializados como a produção de animais para abate em programas de produção de carne de qualidade e a produção de novilhas leiteiras, necessitando de técnicas reprodutivas que acelerem o melhoramento genético.

A aplicação de tecnologias reprodutivas como a aspiração folicular (*ovum pick-up* - OPU) e produção *in vitro* de embriões (PIVE) são utilizadas na multiplicação e progresso genético de rebanhos, disseminando genética e promovendo o aumento do desempenho reprodutivo (Mapletoft et al., 2018). O aumento do número de embriões *in vitro* produzidos no mundo (48,9%) em comparação com 2016 é decorrente dos progressos observados nessas biotecnologias (Viana, 2018). Aproximadamente 66% dos embriões produzidos no mundo são provenientes da OPU-PIVE, sendo que o Brasil é o principal país da América do Sul, e foi o líder mundial até o ano de 2016 perdendo a liderança para os Estados Unidos em 2017 (Viana, 2018).

A PIVE é a biotecnologia que permite obter o maior número de progênies/ano (entre 25 e 50 bezerros) de uma mesma doadora (Varago et al., 2008) e um grande número de embriões, otimizando a utilização do sêmen criopreservado para várias doadoras em uma mesma sessão de PIVE. A maior vantagem da PIVE é a flexibilidade para ser utilizada em rebanhos de qualquer aptidão e tamanho, tenha como finalidade a produção de animais comerciais destinados ao abate ou produção de leite, ou ainda

produção de animais de elite, reprodutores e matrizes. A produção de animais para finalidade comercial em larga escala ganhou destaque com a utilização de sêmen sexado (Pontes et al., 2010).

Entre as etapas da OPU/PIVE estão a aspiração folicular, seleção de oócitos, maturação *in vitro* (MIV), fertilização *in vitro* (FIV) e cultivo *in vitro* (CIV).

A etapa de campo consiste na OPU de doadoras *in vivo*, onde os folículos ovarianos das fêmeas são aspirados através de um sistema de pressão à vácuo acoplado a um transdutor ultrassonográfico. O transdutor é introduzido via vaginal e a agulha perfura os folículos através do fundo vaginal após o posicionamento ovariano via retal, realizado pelo veterinário. Após a coleta, o conteúdo é lavado utilizando Dulbecco's Phosphate Buffered Saline (DPBS) em filtro para oócitos e, com auxílio de estereomicroscópio, os oócitos são selecionados, classificados quanto a sua morfologia e depositados em tubos no transportador de oócitos previamente estabilizado (Varago et al., 2008).

As três etapas subsequentes são eficientemente simuladas *in vitro* no laboratório, onde os oócitos passam pelas etapas de MIV, FIV e CIV. A MIV é o período de cultivo do oócito até o estágio de metáfase II da meiose II; a FIV, período de cultivo com a união de espermatozoides e oócitos maturados; e a CIV, consiste no período de cultivo para o desenvolvimento embrionário dos possíveis zigotos até o estágio de blastocisto, no qual são transferidos para receptoras bovinas (Varago et al., 2008).

Todas as etapas laboratoriais ocorrem em incubadora de cultivo celular, com temperatura regulada entre 38,5° e 39°C, com atmosfera gasosa de baixa tensão de oxigênio com 5% CO₂, 5% O₂ e 90% N₂ ou alta tensão com 5% CO₂ em ar livre, com

umidade saturada, com duração das etapas de MIV (24 horas), FIV (18 a 22 horas) e CIV (7 dias) (Gonçalves et al., 2007; Varago et al., 2008).

Sistemas de co-cultivo celular utilizando células da granulosa são aplicados devido aos benefícios em estimular o desenvolvimento embrionário com a liberação de fatores de crescimento (IGF-I, EGF e TGF β 1) e capturar moléculas tóxicas aos embriões produzidas no ambiente *in vitro* (Varago et al., 2008; Mello et al, 2016). O co-cultivo pode ser substituído por atmosferas de baixa tensão de oxigênio e redução das concentrações de soro fetal bovino (SFB).

A compreensão da MIV dos oócitos, capacitação espermática, FIV e as necessidades nutricionais dos gametas e embriões, bem como dos sistemas de cultivo (Gonçalves et al., 2007), estão entre os avanços científicos que levaram a uma produção em escala comercial de embriões *in vitro*. Os meios TCM 199, FERT-TALP, CR2 ou SOFaa vêm sendo os mais difundidos entre os laboratórios para as etapas de MIV, FIV e CIV, respectivamente (Mello et al., 2016). Dependendo da etapa, os meios são acrescidos de SFB, albumina sérica bovina, hormônios (FSH, LH e estradiol), aminoácidos essenciais e não essenciais (MEM e BME), piruvato, lactato, glutamina, vitaminas e/ou antibióticos (Gandhi et al., 2000; Smetanina et al., 2000).

O ponto crucial da PIVE está relacionado à baixa qualidade de oócitos e à conversão em embriões, ou ainda associado ao acúmulo lipídico maior observado em embriões PIVE, que impedem melhores taxas de produção embrionária (Lonergan et al., 1994). A utilização eficiente da criopreservação como biotecnologia de suporte para conservação do material genético e o aumento das taxas de produção embrionária na PIVE depende da melhoria da qualidade de oócitos e embriões produzidos *in vitro*,

principalmente com a aplicação de técnicas de transferência direta (DT) de embriões com taxas semelhantes à vitrificação (Dochi, 2019). Além disso, a DT tem sido aplicada com sucesso em programas de larga escala no Brasil e Estados Unidos (Sanches et al., 2019).

Algumas modificações nos meios de cultivo como a adição de antioxidantes, lipolíticos, redução das concentrações de SFB e inibidores de meiose refletiram na qualidade dos embriões. Porém, embora tenham promovido melhorias nos meios de cultivo *in vitro*, não refletem em taxas de embriões superiores a 50% (Lonergan e Fair, 2016), permanecendo semelhantes às taxas obtidas nos anos de 1990 a 2000 (Sirard, 2018).

Quando é realizada a análise da produção de embriões é possível diferenciar dois fatores bastante distintos, a qualidade e a quantidade, de embriões produzidos. A qualidade embrionária está mais associada às questões laboratoriais e suas condições de cultivo *in vitro*. A quantidade de embriões é associada ao número de oócitos, um reflexo direto de fatores externos ao laboratório.

O principal fator relacionado à recuperação de oócitos é a raça da doadora, sendo que diferentes médias de número de oócitos são encontradas na literatura para as diferentes raças (Pontes et al., 2010; Ratto et al., 2011; Guerreiro et al., 2014; Gimenez et al., 2015; Sales et al., 2015; Batista et al., 2016). Além disso, o número de oócitos recuperados foi diretamente relacionado à população folicular, maior em animais *B. indicus* que em *B. taurus* (Carvalho et al., 2008; Baruselli et al., 2007). Esses fatores podem ainda ser influenciados pela variação individual entre doadoras de uma mesma raça (Baruselli et al., 2007; Pontes et al., 2010; Pontes et al., 2011; Monteiro et al., 2017).

Dados assimétricos são observados nos parâmetros de recuperação de oócitos, número e taxa de embriões produzidos, sendo que a comparação através da estatística tradicional como a média ou a estratificação por quartis não é capaz de demonstrar as diferenças observadas entre as raças. Modelos matemáticos podem ser aplicados com o objetivo de explicar o comportamento das diferentes raças bovinas para variáveis como a recuperação de oócitos e sua associação com a produção de embriões *in vitro* e a taxa de embriões, contribuindo para a atividade comercial com o detalhamento das raças, estimando as frequências de recuperação de oócitos e produção de embriões, determinando as classes de categorização das doadoras e caracterizando o perfil de produção laboratorial das raças para os laboratórios.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar, por meio de modelos matemáticos, o número de oócitos recuperados de vacas das raças Angus, Brahman, Gir, Guzerá, Holandesa, Nelore e Tabapuã e sua associação com o número e taxa de embriões produzidos *in vitro*, para análise da influência do comportamento destas variáveis na PIVE.

Entre os objetivos específicos deste estudo estão:

- a) Analisar estatisticamente as diferenças entre as raças;
- b) Comparar o número de oócitos entre as raças através da estratificação por quartis de ordem crescente do número de oócitos;
- c) Analisar o comportamento da recuperação de oócitos e produção de embriões *in vitro* das raças através de modelos matemáticos;

- d) Relacionar a análise do comportamento da recuperação de oócitos e produção de embriões *in vitro* através do modelo com a estatística paramétrica e estratificação por quartis;
- e) Explicar as tendências de distribuição e as diferenças de comportamento entre as raças e sua associação com a produção *in vitro* de embriões.

CAPÍTULO 2

2. ANÁLISE DA VARIAÇÃO DO NÚMERO DE OÓCITOS RECUPERADOS E SUA ASSOCIAÇÃO COM A PRODUÇÃO *in vitro* DE EMBRIÕES EM *Bos indicus* e *Bos taurus*

Artigo a ser submetido à Revista Theriogenology.

Resumo

O objetivo do presente trabalho foi avaliar, por meio de modelos matemáticos, o número de oócitos recuperados de vacas de raças taurinas e zebuínas e sua associação com o número e taxa de embriões, para análise da influência do comportamento destas variáveis na produção *in vitro* de embriões (PIVE). Para tanto, o número de oócitos, número e taxa de embriões produzidos *in vitro* de 6306 sessões de aspiração folicular das raças Angus (232), Brahman (463), Gir (1115), Guzerá (191), Holandesa (967), Nelore (3123) e Tabapuã (215) foram analisados por meio de modelagem matemática (Gauss e Weibull). Os dados de cada raça foram estratificados por quartis (Q) crescentes do número de oócitos. As raças Brahman e Nelore apresentaram as maiores médias de número de oócitos e embriões ($p < 0,05$), enquanto a raça Angus apresentou as menores médias ($p < 0,05$) e as demais raças alternaram-se em posições intermediárias. As raças zebuínas apresentam maiores taxas de embriões ($p < 0,05$) que as taurinas. O número de oócitos e embriões difere ($p < 0,05$) entre os quartis em todas as raças, com exceção da raça Angus que não difere ($p > 0,05$) entre Q1 e Q2 para número de embriões. As raças Brahman e Holandesa não apresentaram diferença ($p > 0,05$) entre os quartis para taxa de embriões. Nas demais raças houve alternância no quartil com a maior taxa. As correlações observadas entre o número de oócitos e embriões foram altas e significativas ($p < 0,01$), variando de 0,61 a 0,83, em todas as raças. Considerando os quartis, as correlações foram significativas, exceto para as raças Angus (todos os quartis) e Tabapuã (Q2 e Q4). As correlações (no total) entre número de oócitos e taxa de embriões foram baixas e não significativas ($p > 0,05$) na maioria das raças, exceto Angus e Guzerá, que apresentaram valores baixos, positivos e significativos ($p < 0,05$). Nos quartis, foram significativas as correlações em Q1 e Q3 (Gir), e Q1 (Guzerá e Nelore). O modelo de Weibull apresentou ajuste significativo para a maioria das raças quanto ao número de oócitos e embriões, mas não foi aderente para taxa de embriões. Para número de oócitos e embriões, as raças Brahman e Tabapuã apresentaram tendência unimodal positiva; as demais raças apresentaram tendência exponencial negativa. A raça Angus apresentou tendência unimodal para número de oócitos e exponencial negativa para número de embriões. Em conclusão, a recuperação de oócitos pode ser utilizada como critério na seleção de doadoras, definindo por meio do modelo qual o intervalo de número de oócitos e embriões que propiciam as maiores taxas de embriões produzidos.

Palavras-chave: oócitos, modelagem matemática, raças

2.1 Introdução

A eficiência da produção *in vitro* de embriões (PIVE) é mensurada pelo número de embriões em relação ao número de oócitos coletados. Selecionar doadoras com potencial de apresentar alto número de oócitos por sessão de aspiração (Monteiro et al., 2017) aumenta o número de embriões na PIVE, uma vez que o número de oócitos recuperados está correlacionado positivamente com o número de embriões produzidos (Pontes et al., 2011; Guerreiro et al., 2014; Batista et al., 2016; Feres et al., 2018), podendo a seleção de doadoras para número de oócitos recuperados interferir negativamente na taxa de embriões (Perez et al., 2017a).

Apesar da associação entre número de oócitos recuperados e número de embriões produzidos, fortes questionamentos são levantados quanto à qualidade dos embriões, devido à necessidade de aplicação de biotecnologias de criopreservação, um dos gargalos de embriões *in vitro* para programas em larga escala (Sanches et al., 2019).

Qualidade e quantidade de embriões parecem quase que fatores contrapostos, uma vez que a qualidade é reflexo de fatores internos ao laboratório como as condições de cultivo *in vitro* e a quantidade reflexo de fatores externos como a recuperação de oócitos (relacionado a raça e a doadora).

Predominantemente, a técnica de PIVE foi utilizada em bovinos zebuínos (*Bos indicus*) entre 2005 e 2012 (Viana et al., 2017). Muitos dos avanços na PIVE são decorrentes de características observadas nessas raças, como o alto número de oócitos recuperados (Sartori e Barros, 2011), refletindo na taxa de embriões, taxas de prenhez e, conseqüentemente, nos custos da técnica de PIVE (Pontes et al., 2011; Viana et al., 2018). Atualmente, na atividade comercial, observa-se no Brasil a predominância da

produção de embriões *Bos taurus* (Viana et al., 2017), descaracterizando o número de oócitos como um fator limitante da técnica de PIVE, demonstrando a persistência do Brasil na produção de embriões *in vitro* mesmo em raças com baixo número de oócitos recuperados devido a vantagens como a utilização do sêmen sexado (Pontes et al., 2010).

Na literatura se observam diferentes médias de número de oócitos, número de embriões e taxas de embriões produzidos nas diferentes raças (Pontes et al., 2010; Ratto et al., 2011; Guerreiro et al., 2014; Gimenez et al., 2015; Sales et al., 2015; Batista et al., 2016). O número de folículos recrutados é maior em animais *B. indicus* que em *B. taurus*, sendo uma característica de influência direta no número de oócitos recuperados (Carvalho et al., 2008; Baruselli et al., 2007). Esses fatores podem ainda ser influenciados pela variação individual entre doadoras de uma mesma raça (Baruselli et al., 2007; Pontes et al., 2010; Pontes et al., 2011; Monteiro et al., 2017).

Distribuições assimétricas em dados como número de oócitos recuperados, oócitos viáveis, taxa de embriões e de prenhez são comuns e, por isto, alguns autores analisam suas populações dividindo-as em quartis (Pontes et al., 2011; Watanabe et al., 2017; Feres et al., 2018). Em função dessa assimetria e buscando maior detalhamento, modelos probabilísticos têm sido empregados na produção animal para estimar parâmetros genéticos (Melo et al., 2007; Dornelles et al., 2016) e avaliar curvas de crescimento (Mendes et al., 2008). Na reprodução animal, foram citados na determinação dos fatores de sobrevivência embrionária e a relação entre embrião e receptora (McMillan, 1998); na avaliação de custos para determinar modelos mais econômicos de otimização de receptoras de embriões (Barioni et al., 2007; Beltrame et

al., 2010); na previsão de componente genético para estabelecimento de prenhez em gado leiteiro (Tiezzi et al., 2015); na interação útero-embrião e a influência do balanço energético na manutenção da gestação (Shorten et al., 2018); e na análise genética de características de produção *in vitro* de embriões na raça Guzerá (Perez et al., 2017a).

Devido à assimetria dos dados, a comparação apenas pela média ou a estratificação por quartis se tornam superficiais. Na PIVE, os modelos matemáticos podem ser aplicados com o objetivo de explicar o comportamento das diferentes raças bovinas para variáveis como a recuperação de oócitos e sua associação com a produção de embriões *in vitro* e a taxa de embriões. Desta forma, contribuindo para a atividade comercial com o detalhamento das raças, estimando as frequências de recuperação de oócitos e produção de embriões, determinando as classes de categorização das doadoras e caracterizando o perfil de produção laboratorial das raças para os laboratórios.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar, por meio de modelos matemáticos, o número de oócitos recuperados de doadoras das raças Angus, Brahman, Gir, Guzerá, Holandesa, Nelore e Tabapuã e sua associação com o número e taxa de embriões, para análise da influência do comportamento destas variáveis na PIVE.

2.2. Material e Métodos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, registrado através do protocolo 01609 (Anexo 1) para cessão de uso de dados com anuência da fonte. Trata-se de um estudo

retrospectivo com 6.306 dados de sessões de aspiração folicular (*ovum pick-up* - OPU) e produção *in vitro* de embriões obtidos do registro de rotina comercial, entre 2008 e 2010.

O banco de dados é composto de sessões de OPU/PIVE de 3892 doadoras, pertencentes a 251 criatórios das regiões sul, sudeste e centro-oeste do Brasil, das raças Angus, Brahman, Gir, Guzerá, Holandesa, Nelore e Tabapuã. Ao todo 366 reprodutores das mesmas raças das doadoras foram utilizados no processo de fertilização *in vitro*. Os dados foram concedidos por única empresa, localizada no estado de São Paulo, com múltiplas equipes de OPU e utilizando procedimento padrão para a PIVE. As doadoras foram submetidas entre 1 a 19 sessões de OPU, sendo que 72% dos dados são oriundos de doadoras com uma sessão; 12% das sessões ocorreram de doadoras com três ou mais sessões de OPU e uma única doadora foi submetida a 19 sessões de OPU.

Foram consideradas somente as sessões de OPU/PIVE de doadoras e reprodutores de mesma raça e cujas doadoras obtiveram número de oócitos viáveis maior ou igual a 1.

De cada sessão de OPU/PIVE, foram analisados os seguintes dados: raça (fator de comparação), número de oócitos viáveis, número total de embriões e taxa de embriões em relação ao número de oócitos viáveis.

O percentual de sessões OPU que não produziram embriões na PIVE foi calculado considerando o percentual de fêmeas aspiradas com pelo menos 1 oócito viável que no dia 7 (D7) de cultivo *in vitro* não apresentou desenvolvimento embrionário nos estágios de blastocisto inicial ou superior.

Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software SPSS Statistics, version 24.0 (IBM, New York, EUA). As variáveis analisadas foram: número de oócitos, número e taxa de embriões por raça. A comparação entre as raças foi realizada por meio de Análise de Variância (ANOVA), com teste de homogeneidade de variância de Levene, seguido pelo teste de Bonferroni. O conjunto de dados de cada raça foi dividido em quartis de ordem crescente pelo número de oócitos (Q1, Q2, Q3 e Q4). O teste Qui-quadrado foi utilizado para comparar o percentual de sessões OPU que não produziram embriões na PIVE, entre as raças e quartis. O teste de Pearson foi utilizado para determinar as correlações entre número de oócitos, número de embriões e taxa de embriões para o total de doadoras e em cada quartil por raça. Em todas as análises foi considerado o nível de significância de 5%.

Modelo Matemático

As frequências foram distribuídas em 10 classes para número de oócitos, número de embriões e taxa de embriões. Em cada raça, o número máximo observado na variável foi dividido pelo número de classes, nas quais foram distribuídas as frequências.

Foram utilizados dois modelos de distribuição probabilística, ajustados por regressão não linear, pelo método de mínimos quadrados e procedimento de Marquadt: Gauss e Weibull. A distribuição de Gauss consiste em uma curva em forma de sino e simétrica em relação à média. A distribuição de Weibull é uma distribuição exponencial, podendo assumir várias formas, portanto, mais flexível que a distribuição de Gauss.

A função de Gauss é representada abaixo (Gauss, 1809).

$$f(x) = \left\{ \frac{1}{\sqrt{2\pi} \cdot \sigma} \cdot e^{-\frac{1}{2} \left(\frac{x-\mu}{\sigma} \right)^2} \quad -\infty < x < +\infty \right.$$

A função de Weibull é representada abaixo (Weibull e Sweden, 1951).

$$f(x) = \begin{cases} \frac{c}{b} \cdot \left(\frac{x-a}{b} \right)^{c-1} \cdot e^{-\left(\frac{x-a}{b} \right)^c} & \text{se } x \geq a, \quad b > 0 \text{ e } c > 0 \\ 0 & \text{e. o. c} \end{cases}$$

A aderência dos modelos matemáticos foi verificada por meio do coeficiente de determinação ajustado (R^2_{adj}), Qui quadrado (Qui^2) e análise dos resíduos. Os modelos ajustados serão aqueles com valores de R^2_{adj} mais próximos de 1. São considerados aderentes os modelos com valor de P pelo teste de Qui^2 maior ou igual a 0,05 e resíduos mais próximos da abscissa.

O tipo de sêmen (convencional ou sexado), estação do ano, categoria da doadora (nulípara, primípara ou múltípara), estado fisiológico da doadora (lactante ou não lactante), escore de condição corporal, idade da doadora, número de sessões de OPU ao longo da vida reprodutiva, fase do ciclo estral da doadora e diferenças nas equipes de OPU e PIVE foram considerados efeitos casualizados.

2.3. Resultados

Foram avaliados dados de 6.306 sessões de OPU das raças Angus (232), Brahman (463), Gir (1115), Guzerá (191), Holandesa (967), Nelore (3123) e Tabapuã (215), totalizando dados de 130.032 oócitos. Na tabela 1, foram observados altos

coeficientes de variação para número de oócitos (82%) e embriões (103%), razão pela qual foi utilizado o teste de Bonferroni para a comparação de médias.

As raças Brahman e Nelore apresentaram as maiores médias ($p < 0,05$), considerando número de oócitos e número de embriões, sendo as únicas que apresentaram valores máximos acima de 100 oócitos recuperados na OPU. A raça Angus apresentou as menores médias nestes parâmetros ($p < 0,05$), e as demais raças alternaram-se nas posições intermediárias (tabela 1).

Os menores percentuais de sessões OPU/PIVE que não produziram embriões foram observadas nas raças *B. indicus* de aptidão para corte: Brahman, Tabapuã e Nelore. A raça Angus apresentou o maior percentual ($p < 0,05$) neste parâmetro (39,22%) (tabela 1).

As maiores taxas de embriões foram observadas nas raças Tabapuã (41,01%) e Brahman (38,29%), que não diferem entre si ($p > 0,05$). É possível, ainda, observar que as raças taurinas Angus (22,73%) e Holandesa (23,73%) apresentaram as menores taxas de embriões, diferindo ($p < 0,05$) das raças zebuínas (tabela 1).

A tabela 2 apresenta o número e percentual de sessões de OPU que não produziram embriões, separados por quartis crescentes do número de oócitos (Q1, Q2, Q3 e Q4), em cada uma das raças. Em todas as raças, o maior percentual de sessões que não produziram embriões é observado no Q1, reduzindo significativamente ($p < 0,05$) à medida que aumenta o quartil (Q2, Q3 e Q4). A exceção foi a raça Tabapuã, que não apresentou diferenças ($p > 0,05$) entre os quartis, sendo esta a raça com menor percentual de sessões de OPU que não produziram embriões. Cabe ressaltar que nas raças

Brahman, Guzerá e Tabapuã, foram observadas frequências menores que 5 em Q2, Q3 e Q4, o que compromete a capacidade de extrapolação dos resultados para a população.

Os dados de número de oócitos, número e taxa de embriões das raças, divididas por quartis crescentes do número de oócitos (Q1, Q2, Q3 e Q4), são apresentados na tabela 3. O número médio de oócitos difere ($p < 0,05$) entre os quartis em todas as raças, observando-se um aumento gradativo da média em relação aos quartis.

Houve diferenças ($p < 0,05$) entre os quartis no número médio de embriões em todas as raças, com exceção da raça Angus, em que a média não diferiu ($p > 0,05$) nos quartis 1 e 2. Para todas as raças, os quartis 3 e 4 apresentaram médias superiores à média da raça apresentada na tabela 1. Em relação à taxa de embriões, somente as raças Brahman e Holandesa não apresentaram diferenças ($p > 0,05$) entre os quartis. Nas demais, houve alternância no quartil com a maior taxa de embriões (tabela 3).

Na tabela 4, são apresentados os dados de correlação entre número de oócitos, número de embriões e taxa de embriões, considerando os totais por raça e também separados nos quartis. As correlações observadas entre o número de oócitos e embriões foram altas e significativas ($p < 0,01$), variando de 0,61 a 0,83, em todas as raças. Considerando os quartis, as correlações foram significativas ($p < 0,05$), exceto para as raças Angus (todos os quartis) e Tabapuã (Q2 e Q4). As correlações (no total) entre número de oócitos e taxa de embriões foram baixas e não significativas ($p > 0,05$) na maioria das raças, exceto Angus e Guzerá, que apresentaram valores baixos, positivos e significativos ($p < 0,05$). Nos quartis, foram significativas ($p < 0,05$) as correlações em Q1 e Q3 (Gir), e Q1 (Guzerá e Nelore). As correlações (total e quartis) entre número de

embriões e taxa de embriões foram altas, positivas e significativas ($p < 0,05$) em todas as raças.

Tabela 1 – Número de sessões de aspiração folicular (OPU), número de oócitos, número de embriões e taxa de embriões no dia 7 (D7) de cultivo *in vitro* e percentual de sessões de aspiração folicular (OPU) que não produziram embriões (sem embrião) por raça.

Raça	OPU (n)	Número de oócitos			Número de embriões ($\bar{x}\pm s$)	Taxa de embriões (%)	OPU sem embrião (n/%)
		(n)	($\bar{x}\pm s$)	Mínimo/Máximo			
Angus	232	1.886	8,13 \pm 5,59 ^d	1/29	2,03 \pm 2,48 ^d	22,73 ^e	91/39,22 ^a
Holandesa	967	17.446	18,04 \pm 14,58 ^b	1/100	4,45 \pm 5,29 ^c	23,73 ^e	215/22,23 ^b
<i>Bos taurus</i>	1199	19.332	16,12 \pm 13,88 ^B	1/100	3,98 \pm 4,96 ^B	23,53 ^B	306/25,52 ^A
Brahman	463	11.242	24,28 \pm 17,37 ^a	1/108	9,27 \pm 7,67 ^a	38,29 ^{ab}	31/6,70 ^e
Gir	1115	17.348	15,55 \pm 11,60 ^c	1/90	4,39 \pm 4,53 ^c	27,39 ^d	225/20,18 ^{bc}
Guzerá	191	3.729	19,52 \pm 14,87 ^b	1/68	7,17 \pm 6,84 ^b	33,09 ^{bc}	30/15,71 ^c
Nelore	3123	74.851	23,96 \pm 19,06 ^a	1/160	7,93 \pm 7,47 ^b	33,19 ^c	341/10,92 ^d
Tabapuã	215	3.530	16,42 \pm 9,67 ^{bc}	1/65	6,71 \pm 5,07 ^b	41,01 ^a	17/7,91 ^{de}
<i>Bos indicus</i>	5107	110.700	21,67 \pm 17,44 ^A	1/160	7,20 \pm 7,01 ^A	32,71 ^A	644/12,61 ^B

Nota: Letras minúsculas diferentes na coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Bonferroni. Letras maiúsculas diferentes na coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre *Bos taurus* e *Bos indicus* pelo teste de Bonferroni. A comparação de sessões de OPU sem embrião na PIVE foi realizada pelo teste de Qui-quadrado.

$\bar{x}\pm s$ = média \pm desvio padrão

Tabela 2 – Número e percentual de sessões de aspiração folicular (OPU) que não produziram embrião (sem embrião), segundo o quartil crescente do número de oócitos (Q1, Q2, Q3 e Q4) e a raça.

	OPU sem embrião (n)	Q1 (n/%)	Q2 (n/%)	Q3 (n/%)	Q4 (n/%)	Valor p
Angus	91	40/44,0 ^a	27/30,0 ^{ab}	16/18,0 ^{bc}	8/9,0 ^c	0,0038
Brahman	31	20/65,0 ^a	5/16,0 ^b	4/13,0 ^b	2/6,0 ^b	0,0131
Gir	225	135/60,0 ^a	48/21,0 ^b	33/15,0 ^b	9/4,0 ^c	<0,0001
Guzerá	30	25/83,0 ^a	3/10,0 ^b	2/7,0 ^b	0/0,0 ^b	<0,0001
Holandesa	215	121/56,0 ^a	55/26,0 ^b	27/13,0 ^c	12/6,0 ^c	<0,0001
Nelore	341	237/70,0 ^a	57/17,0 ^b	29/9,0 ^c	18/5,0 ^c	<0,0001
Tabapuã	17	12/71,0 ^a	2/12,0 ^a	2/12,0 ^a	1/6,0 ^a	0,0685

Nota: Letras minúsculas diferentes na linha indicam diferença estatística significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Qui-quadrado.

Tabela 3 – Média e desvio padrão do número de oócitos, número de embriões e taxa de embriões, segundo o quartil crescente do número de oócitos (Q1, Q2, Q3 e Q4) e a raça.

Parâmetro	Quartil	Angus ($\bar{x}\pm s$)	Brahman ($\bar{x}\pm s$)	Gir ($\bar{x}\pm s$)	Guzerá ($\bar{x}\pm s$)	Holandesa ($\bar{x}\pm s$)	Nelore ($\bar{x}\pm s$)	Tabapuã ($\bar{x}\pm s$)
Número de oócitos	Q1	2,52±1 ^d	8,15±2,96 ^d	4,25±1,89 ^d	3,72±1,93 ^d	4,47±1,93 ^d	6,09±2,44 ^d	7,13±2,44 ^d
	Q2	4,97±0,82 ^c	15,87±2,07 ^c	10,03±1,55 ^c	11,94±2,92 ^c	10,73±1,94 ^c	14,69±1,42 ^c	11,98±1,42 ^c
	Q3	8,93±1,49 ^b	24,49±3,5 ^b	16,37±2,4 ^b	21,35±2,62 ^b	18,96±2,69 ^b	25,14±1,78 ^b	17,13±1,78 ^b
	Q4	16,1±3,87 ^a	48,47±16,3 ^a	31,54±10,6 ^a	40,75±10,16 ^a	37,95±14,18 ^a	49,92±9,58 ^a	29,26±9,58 ^a
	p	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Número de embriões	Q1	0,48±0,82 ^c	3,04±2,35 ^d	1,09±1,39 ^d	0,96±1,27 ^d	0,98±1,27 ^d	2,02±1,91 ^d	2,4±1,91 ^d
	Q2	0,93±1,07 ^c	6,38±3,37 ^c	2,87±2,19 ^c	4,52±2,48 ^c	2,74±2,48 ^c	5,16±2,56 ^c	5,48±2,56 ^c
	Q3	2,29±2,1 ^b	9,69±4,38 ^b	4,65±3,23 ^b	7,9±4,03 ^b	4,5±3,32 ^b	8,59±4 ^b	7,59±4 ^b
	Q4	4,43±3,02 ^a	17,91±8,8 ^a	8,95±5,59 ^a	15,19±7,31 ^a	9,58±7,2 ^a	15,95±5,95 ^a	11,3±5,95 ^a
	p	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Taxa de embriões	Q1	18,53±31,18 ^b	35,76±24,39 ^a	24,09±29,51 ^b	19,84±25,33 ^b	20,78±26,85 ^a	30,84±24,01 ^c	33,69±24,01 ^b
	Q2	18,3±20,6 ^b	40,05±20,14 ^a	28,79±21,62 ^a	38,4±20,26 ^a	25,44±22,35 ^a	35,27±21,28 ^a	46,1±21,28 ^a
	Q3	25,5±22,42 ^{ab}	39,82±18,08 ^a	28,04±18,8 ^a	36,56±17,05 ^a	23,72±17,05 ^a	34,21±21,74 ^{ab}	43,94±21,74 ^{ab}
	Q4	28,58±19,52 ^a	37,53±15,66 ^a	28,65±15,71 ^a	37,28±15,19 ^a	24,96±15,05 ^a	32,46±19,84 ^{bc}	40,17±19,84 ^{ab}
	p	0,0476	0,3034	0,0371	<0,001	0,06	<0,001	0,0204

Nota: Letras minúsculas diferentes na coluna indicam diferença estatística significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Bonferroni.

$\bar{x}\pm s$ = média \pm desvio padrão

Tabela 4 – Correlações (ρ) entre número de oócitos, número de embriões e taxa de embriões no total da raça e nos quartis crescentes do número de oócitos (Q1, Q2, Q3 e Q4) de cada raça.

Parâmetro	Quartil	Angus (ρ ; p)	Brahman (ρ ; p)	Gir (ρ ; p)	Guzerá (ρ ; p)	Holandesa (ρ ; p)	Nelore (ρ ; p)	Tabapuã (ρ ; p)
Número de oócitos x número de embriões	Total	0,6065; <0,0001	0,8002; <0,0001	0,7157; <0,0001	0,8304; <0,0001	0,7327; <0,0001	0,7721; <0,0001	0,6321; <0,0001
	Q1	0,1827; 0,1699	0,5518; <0,0001	0,4344; <0,0001	0,5992; <0,0001	0,3979; <0,0001	0,5195; <0,0001	0,4204; 0,0017
	Q2	0,2576; 0,0509	0,2990; 0,0011	0,1603; 0,0073	0,3166; 0,0284	0,2010; 0,0017	0,2677; <0,0001	0,1322; 0,3408
	Q3	0,2369; 0,0733	0,2161; 0,0198	0,3267; <0,0001	0,4126; 0,0036	0,2058; 0,0013	0,2750; <0,0001	0,3649; 0,0067
	Q4	0,0771; 0,5653	0,5801; <0,0001	0,4701; <0,0001	0,5356; <0,0001	0,5908; <0,0001	0,5295; <0,0001	0,2452; 0,0739
Número de oócitos x taxa embriões	Total	0,1393; 0,0339	-0,0090; 0,8475	0,0509; 0,0889	0,2286; 0,0015	0,0562; 0,0806	-0,0063; 0,7229	-0,0101; 0,8829
	Q1	0,0531; 0,6922	0,1809; 0,0530	0,1241; 0,0387	0,4571; 0,0012	0,0883; 0,1717	0,1926; <0,0001	-0,0120; 0,9322
	Q2	0,1340; 0,3161	0,0555; 0,5542	-0,0401; 0,5043	-0,1101; 0,4561	0,0147; 0,8204	-0,0329; 0,3588	-0,1424; 0,3043
	Q3	0,0489; 0,7152	-0,1018; 0,2768	0,1224; 0,0410	0,2035; 0,1654	0,0173; 0,7895	-0,0163; 0,6495	0,1720; 0,2137
	Q4	-0,2295; 0,0831	-0,1124; 0,2295	-0,0542; 0,3674	-0,0021; 0,9889	0,0495; 0,4433	-0,0895; 0,0121	-0,2441; 0,0753
Número de embriões x taxa embriões	Total	0,7116; <0,0001	0,4783; <0,0001	0,5625; <0,0001	0,5752; <0,0001	0,5352; <0,0001	0,4547; <0,0001	0,6556; <0,0001
	Q1	0,9400; <0,0001	0,8577; <0,0001	0,8423; <0,0001	0,9372; <0,0001	0,8440; <0,0001	0,8573; <0,0001	0,8450; <0,0001
	Q2	0,9807; <0,0001	0,9613; <0,0001	0,9681; <0,0001	0,8775; <0,0001	0,9681; <0,0001	0,9387; <0,0001	0,9568; <0,0001
	Q3	0,9704; <0,0001	0,9398; <0,0001	0,9695; <0,0001	0,9671; <0,0001	0,9727; <0,0001	0,9469; <0,0001	0,9744; <0,0001
	Q4	0,9274; <0,0001	0,7188; <0,0001	0,8175; <0,0001	0,8155; <0,0001	0,7916; <0,0001	0,7461; <0,0001	0,8307; <0,001

A fim de compreender mais detalhadamente o comportamento do número de oócitos, número e taxa de embriões, foi realizada a modelagem matemática, utilizando-se as curvas de Gauss e Weibull. Na tabela 5 podem ser visualizadas as frequências relativas observadas e estimadas pelo modelo de Weibull para número de oócitos, número e taxa de embriões para cada raça avaliada. Os resultados dos ajustes em termos de aderência estão apresentados na tabela 6, onde se observa que o modelo de Gauss foi aderente apenas para três das sete raças e para taxa de embriões. O modelo de Weibull teve ajuste significativo para a maioria das raças quanto ao número de oócitos e embriões, mas não foi eficiente para taxa de embriões, razão pela qual as estimativas pelo modelo de Weibull não foram realizadas para esta variável.

Tabela 5 – Distribuição de frequências observada (fobs%) e estimada (fest%) relativas pelo modelo de Weibull de número de oócitos, número e taxa de embriões para cada raça.

Raça	Número de oócitos				Número de Embriões				Taxa de embriões		
	Li	– Ls	fobs (%)	fest (%)	Li	– Ls	fobs (%)	fest (%)	Li	– Ls	fobs (%)
Angus	1,0	– 3,0	0,1164	0,1485	0	– 1	0,5517	0,7396	0	– 10	0,4181
	3,0	– 5,9	0,3060	0,2533	1	– 2	0,1379	0,2189	10	– 20	0,1121
	5,9	– 8,8	0,1810	0,2314	2	– 3	0,0819	0,0355	20	– 30	0,1207
	8,8	– 11,7	0,1552	0,1659	3	– 4	0,0647	0,0059	30	– 40	0,1293
	11,7	– 14,6	0,0905	0,1004	4	– 5	0,0517	0,0000	40	– 50	0,1078
	14,6	– 17,5	0,0819	0,0568	5	– 6	0,0431	0,0000	50	– 60	0,0517
	17,5	– 20,4	0,0302	0,0262	6	– 7	0,0259	0,0000	60	– 70	0,0345
	20,4	– 23,3	0,0302	0,0131	7	– 8	0,0129	0,0000	70	– 80	0,0043
	23,3	– 26,2	0,0000	0,0044	8	– 9	0,0086	0,0000	80	– 90	0,0000
26,2	– 29,0	0,0086	0,0000	9	– 10	0,0216	0,0000	90	– 100	0,0216	
Brahman	1,0	– 10,9	0,1793	0,2120	0,0	– 4,6	0,2981	0,3072	0	– 10	0,1037
	10,9	– 21,7	0,3801	0,3512	4,6	– 9,1	0,3218	0,2945	10	– 20	0,0734
	21,7	– 32,5	0,2030	0,2570	9,1	– 13,6	0,1641	0,2013	20	– 30	0,1641
	32,5	– 43,3	0,1080	0,1221	13,6	– 18,1	0,0929	0,1038	30	– 40	0,2073
	43,3	– 54,1	0,0583	0,0428	18,1	– 22,6	0,0518	0,0551	40	– 50	0,2160
	54,1	– 64,9	0,0432	0,0128	22,6	– 27,1	0,0389	0,0212	50	– 60	0,1037
	64,9	– 75,7	0,0086	0,0021	27,1	– 31,6	0,0130	0,0106	60	– 70	0,0756
	75,7	– 86,5	0,0065	0,0000	31,6	– 36,1	0,0130	0,0042	70	– 80	0,0410
	86,5	– 97,3	0,0086	0,0000	36,1	– 40,6	0,0022	0,0021	80	– 90	0,0108
97,3	– 108,0	0,0043	0,0000	40,6	– 45,0	0,0043	0,0000	90	– 100	0,0043	

Continuação na próxima página

Raça	Número de oócitos			Número de Embriões			Taxa de embriões	
	Li Ls	fobs (%)	fest (%)	Li Ls	fobs (%)	fest (%)	Li Ls	fobs (%)
Gir	1 9	0,3489	0,3515	0 3,3	0,5417	0,5700	0 10	0,2583
	9 18	0,3390	0,3260	3,3 6,5	0,2090	0,2517	10 20	0,1543
	18 27	0,1686	0,1889	6,5 9,7	0,1265	0,1068	20 30	0,1776
	27 36	0,0879	0,0861	9,7 12,9	0,0601	0,0441	30 40	0,1668
	36 45	0,0323	0,0325	12,9 16,1	0,0395	0,0186	40 50	0,1157
	45 54	0,0108	0,0105	16,1 19,3	0,0099	0,0059	50 60	0,0538
	54 63	0,0090	0,0035	19,3 22,5	0,0072	0,0020	60 70	0,0341
	63 72	0,0027	0,0009	22,5 25,7	0,0036	0,0010	70 80	0,0197
	72 81	0,0000	0,0000	25,7 28,9	0,0018	0,0000	80 90	0,0072
	81 90	0,0009	0,0000	28,9 32,0	0,0009	0,0000	90 100	0,0126
Guzerá	1,0 6,9	0,2356	0,2275	0,0 3,7	0,3665	0,3579	0 10	0,1728
	6,9 13,7	0,1885	0,2169	3,7 7,3	0,2199	0,2526	10 20	0,0838
	13,7 20,5	0,1832	0,1693	7,3 10,9	0,1885	0,1526	20 30	0,1885
	20,5 27,3	0,1518	0,1270	10,9 14,5	0,1047	0,0895	30 40	0,1937
	27,3 34,1	0,0681	0,0899	14,5 18,1	0,0419	0,0579	40 50	0,1990
	34,1 40,9	0,0681	0,0635	18,1 21,7	0,0262	0,0368	50 60	0,0785
	40,9 47,7	0,0524	0,0423	21,7 25,3	0,0209	0,0211	60 70	0,0524
	47,7 54,5	0,0157	0,0317	25,3 28,9	0,0209	0,0158	70 80	0,0105
	54,5 61,3	0,0209	0,0212	28,9 32,4	0,0052	0,0105	80 90	0,0105
	61,3 68,0	0,0157	0,0106	32,4 36,0	0,0052	0,0053	90 100	0,0105
Holandesa	1 10	0,3754	0,3720	0 4	0,6422	0,6703	0 10	0,2968
	11 20	0,2968	0,2933	4 8	0,2006	0,2205	10 20	0,2006
	21 30	0,1768	0,1724	8 12	0,0848	0,0731	20 30	0,1923
	31 40	0,0786	0,0897	12 16	0,0403	0,0240	30 40	0,1251
	41 50	0,0310	0,0423	16 20	0,0124	0,0076	40 50	0,1013
	51 60	0,0228	0,0181	20 24	0,0103	0,0033	50 60	0,0352
	61 70	0,0083	0,0081	24 28	0,0031	0,0011	60 70	0,0176
	71 80	0,0052	0,0030	28 32	0,0010	0,0000	70 80	0,0114
	81 90	0,0031	0,0010	32 36	0,0021	0,0000	80 90	0,0052
	91 100	0,0021	0,0000	36 40	0,0031	0,0000	90 100	0,0145

Continuação na próxima página

Raça	Número de oócitos			Número de Embriões			Taxa de embriões	
	Li – Ls	fobs (%)	fest (%)	Li – Ls	fobs (%)	fest (%)	Li – Ls	fobs (%)
Nelore	1 – 16	0,4307	0,4261	0,0 – 6,1	0,5357	0,5340	0 – 10	0,1489
	16 – 32	0,3289	0,3180	6,1 – 12,3	0,2626	0,2594	10 – 20	0,1217
	32 – 48	0,1454	0,1582	12,3 – 18,4	0,1159	0,1179	20 – 30	0,1761
	48 – 64	0,0522	0,0646	18,4 – 24,5	0,0467	0,0518	30 – 40	0,2085
	64 – 80	0,0256	0,0229	24,5 – 30,6	0,0227	0,0226	40 – 50	0,1729
	80 – 96	0,0102	0,0074	30,6 – 36,7	0,0086	0,0083	50 – 60	0,0868
	96 – 112	0,0038	0,0022	36,7 – 42,8	0,0042	0,0035	60 – 70	0,0445
	112 – 128	0,0019	0,0006	42,8 – 48,9	0,0022	0,0016	70 – 80	0,0227
	128 – 144	0,0006	0,0000	48,9 – 55,0	0,0003	0,0006	80 – 90	0,0106
	144 – 160	0,0006	0,0000	55,0 – 61,0	0,0010	0,0003	90 – 100	0,0074
Tabapuã	1,0 – 6,6	0,0791	0,1244	0 – 3	0,2837	0,2911	0 – 10	0,0977
	6,6 – 13,1	0,3674	0,3272	3 – 6	0,3023	0,2864	10 – 20	0,0837
	13,1 – 19,6	0,2651	0,3041	6 – 9	0,1581	0,1972	20 – 30	0,1302
	19,6 – 26,1	0,1488	0,1613	9 – 12	0,1488	0,1174	30 – 40	0,2047
	26,1 – 32,6	0,0884	0,0645	12 – 15	0,0419	0,0610	40 – 50	0,1628
	32,6 – 39,1	0,0233	0,0138	15 – 18	0,0186	0,0282	50 – 60	0,1302
	39,1 – 45,6	0,0140	0,0046	18 – 21	0,0326	0,0141	60 – 70	0,0977
	45,6 – 52,1	0,0000	0,0000	21 – 24	0,0093	0,0047	70 – 80	0,0558
	52,1 – 58,6	0,0047	0,0000	24 – 27	0,0000	0,0000	80 – 90	0,0233
	58,6 – 65,1	0,0093	0,0000	27 – 30	0,0047	0,0000	90 – 100	0,0140

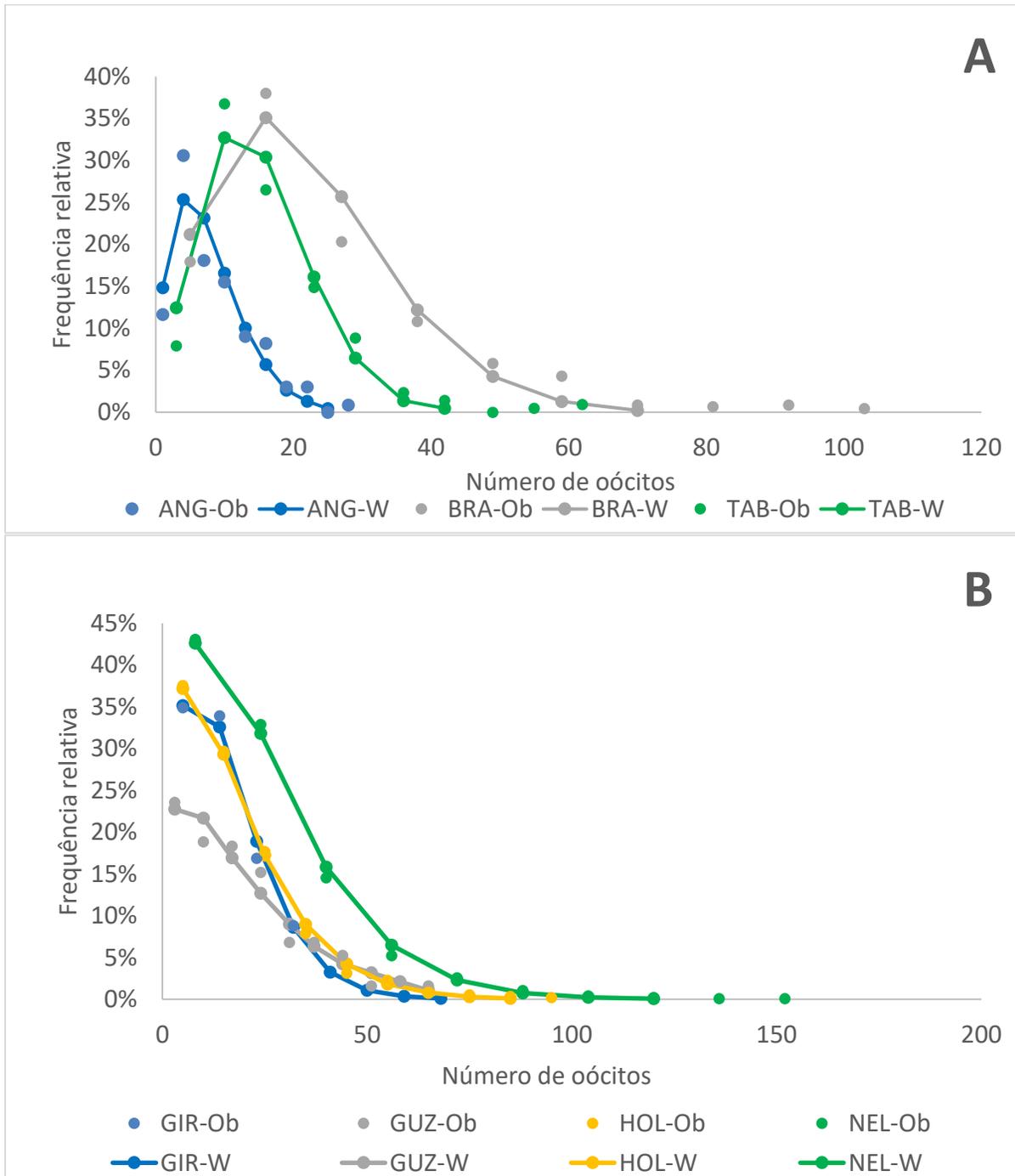
Li e Ls: Limite inferior e superior da classe de número de oócitos, número e taxa de embriões.

Tabela 6 – Parâmetros de ajustes dos modelos Gauss e Weibull para as variáveis número de oócitos, número e taxa de embriões, por raça.

		Gauss		Weibull	
		R ² adj	P (Qui ²)	R ² adj	P (Qui ²)
Número de oócitos	Angus	0,654	0,000	0,897	0,063
	Brahman	0,735	0,000	0,944	0,000
	Gir	0,918	0,000	0,996	0,051
	Guzerá	0,846	0,000	0,958	0,784
	Holandesa	0,903	0,000	0,998	0,231
	Nelore	0,921	0,000	0,998	0,000
	Tabapuã	0,752	0,000	0,942	0,153
Número de embriões	Angus	0,831	0,000	0,979	0,000
	Brahman	0,840	0,000	0,978	0,016
	Gir	0,883	0,000	0,992	0,000
	Guzerá	0,932	0,000	0,977	0,812
	Holandesa	0,892	0,000	0,999	0,000
	Nelore	0,903	0,000	1,000	0,560
	Tabapuã	0,831	0,000	0,963	0,214
Taxa de Embriões	Angus	0,890	0,000	0,908	0,000
	Brahman	0,926	0,083	0,827	0,000
	Gir	0,958	0,000	0,899	0,000
	Guzerá	0,894	0,084	0,669	0,000
	Holandesa	0,949	0,000	0,967	0,000
	Nelore	0,969	0,000	0,820	0,000
	Tabapuã	0,940	0,945	0,826	0,013

Na análise gráfica da figura 1A podem ser observados os ajustes do modelo de Weibull às frequências relativas das classes de números de oócitos, na qual se observa uma tendência unimodal para as raças Angus, Brahman e Tabapuã, enquanto na figura 1B a tendência é exponencial negativa para as demais raças. Ainda, a curva e os pontos da frequência observada corroboram os resultados da tabela 6. Os gráficos de frequência estimada pelo modelo de Gauss não foram apresentados, uma vez que o ajuste foi insatisfatório.

Figura 1 – Frequências relativas de número de oócitos observadas (Ob) e estimadas (W) pelo modelo de Weibull para raças com tendência unimodal assimétrica (A) e raças com tendência exponencial negativa (B)



GIR (Gir), GUZ (Guzerá), HOL (Holandesa), NEL (Nelore), ANG (Angus), BRA (Brahman) TAB (Tabapuã).

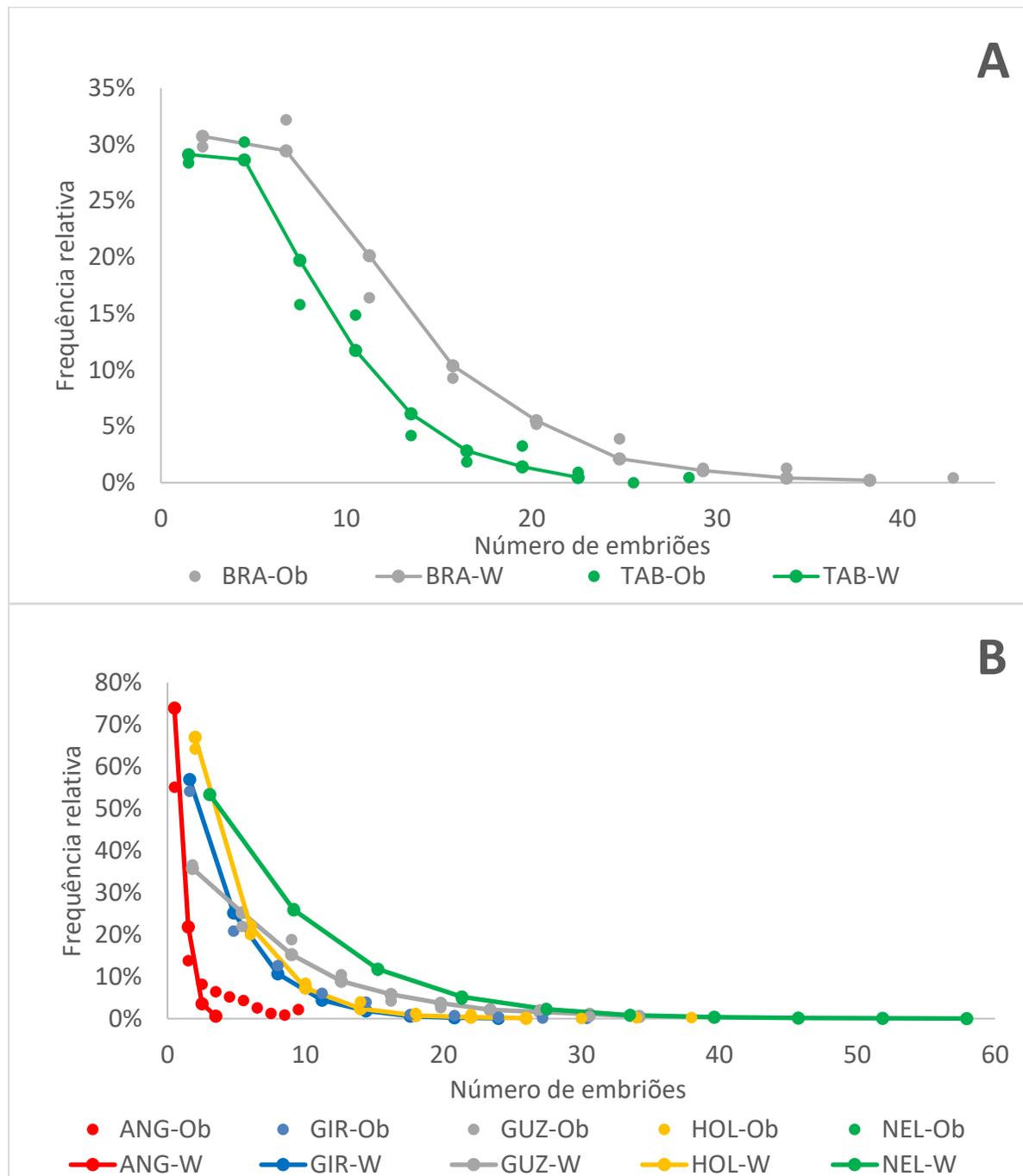
A figura 2 apresenta a tendência de distribuição da frequência do número de embriões das raças. Dois tipos de tendência foram observados: tendência unimodal assimétrica (A) para as raças Brahman e Tabapuã, e tendência exponencial negativa (B) para as raças Angus, Gir, Guzerá, Holandesa e Nelore.

Para taxa de embriões, embora os valores de R^2 ajustado tenham sido altos, os modelos de Gauss e Weibull não foram aderentes para a maioria das raças. Sendo assim, na figura 3, foram apresentadas somente as frequências observadas em relação às taxas de embriões.

A figura 3 mostra que nas raças Angus, Gir e Holandesa as maiores frequências foram observadas na primeira classe, que representa taxa de embriões de até 10%. Nas raças Brahman, Guzerá, Nelore e Tabapuã, as maiores frequências foram observadas em classe intermediária, com taxa de embriões entre 30 e 40%.

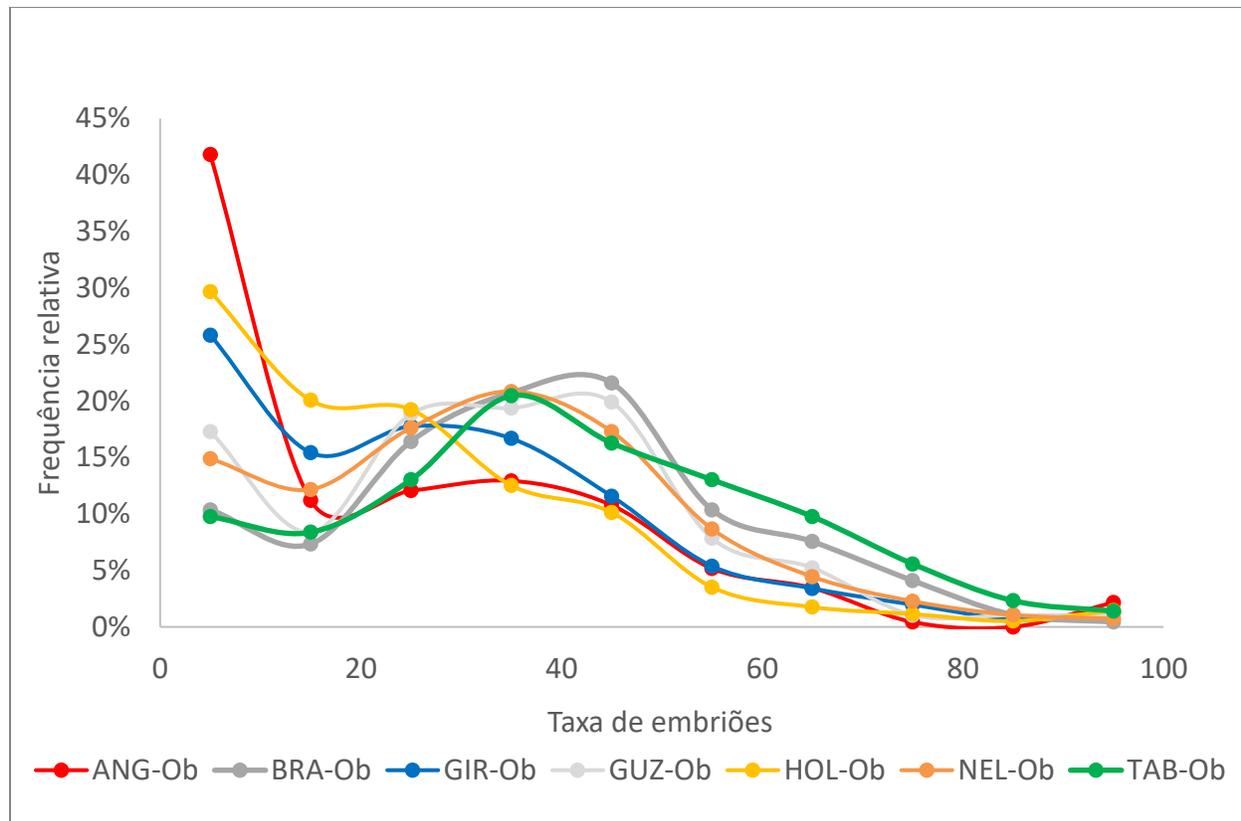
Considerando que a taxa de embriões média observada para as doadoras foi de aproximadamente 30% (tabela 1), observou-se que o percentual da raça Angus que se apresenta abaixo deste valor médio corresponde a 65% e, acima deste valor, corresponde a 35%; assim como, respectivamente, nas raças Brahman (34/66%), Gir (59/41%), Guzerá (44/66%), Holandesa (68/32%), Nelore (44/56%) e Tabapuã (31/69%).

Figura 2 – Frequências relativas de número de embriões observadas (Ob) e estimadas (W) pelo modelo de Weibull para raças com tendência unimodal assimétrica (A) e raças com tendência exponencial negativa (B)



GIR (Gir), GUZ (Guzerá), HOL (Holandesa), NEL (Nelore), ANG (Angus), BRA (Brahman) TAB (Tabapuã).

Figura 3 – Frequências relativas da taxa de embriões observadas (Ob) segundo as raças



GIR (Gir), GUZ (Guzerá), HOL (Holandesa), NEL (Nelore), ANG (Angus), BRA (Brahman) TAB (Tabapuã).

2.4 Discussão

Para poder inferir sobre uma raça (população), um número relativamente alto de dados é necessário, atingindo a intensidade amostral para alcançar poder estatístico. O banco de dados analisado no presente trabalho, por conter mais de 6.000 dados de diferentes raças e por ser oriundo de laboratório comercial, pode ser considerado representativo para estas populações.

Algumas diferenças entre *B. indicus* e *B. taurus* já são conhecidas, como o número de ondas foliculares por ciclos, número de folículos recrutados por onda, diâmetro de folículos nos diferentes estágios de desenvolvimento, resposta ovulatória do folículo dominante e diâmetro do corpo lúteo (Baruselli et al., 2007; Sartori e Barros, 2011). No presente estudo foram encontradas diferenças entre os grupos *B. indicus* e *B. taurus*, em relação ao número médio de oócitos (21,67 e 16,12, respectivamente), com variação entre as raças zebuínas e taurinas de 15,55 a 24,28; e 8,13 a 18,04, respectivamente.

Diversos estudos avaliando diferenças entre subespécies e raças quanto a parâmetros de produção *in vitro* de embriões são encontrados na literatura (Pontes et al., 2010; Ratto et al., 2011; Guerreiro et al., 2014; Gimenes et al., 2015; Sales et al., 2015; Batista et al., 2016; Watanabe et al., 2017), e apontam animais *B. indicus* com maior recuperação de oócitos em relação aos *B. taurus* (Gimenes et al., 2015, Watanabe et al., 2017). A diferença entre *B. indicus* e *taurus* foi descrita por Carvalho et al. (2008), indicando um maior número de folículos recrutados por *B. indicus*, que posteriormente foi relacionado a uma maior recuperação de oócitos e produção de embriões (Silva-Santos et al., 2014b, Santos et al., 2016). Alguns autores afirmam que recuperação de oócitos nas raças *B. indicus* é maior que em *B. taurus*, e em animais de aptidão de corte maior que em animais de aptidão leiteira nos *B. indicus* (Pontes et al., 2010; Pontes et al., 2011; Watanabe et al., 2017), corroborando os resultados encontrados neste estudo.

O número de folículos recrutados por onda também foi associado aos níveis de IGF-I maiores em *B. indicus* e de FSH em *B. taurus* (Simpson et al., 1994; Alvarez et al., 2000), explicando a maior capacidade de recuperação de oócitos dos *B. indicus*. Baixo número de folículos foram associados a maiores concentrações de FSH e estradiol, e

relacionados a menor competência de desenvolvimento embrionário (Ireland et al., 2007; Ireland et al., 2009). Em outros estudos, a variação do número de folículos entre as raças foi associada aos níveis de hormônio antimulleriano (AMH), correlacionado positivamente com a população folicular ovariana e ao número de oócitos recuperados, com maiores concentrações de AMH em *B. indicus* em comparação a *B. taurus*, (Guerreiro et al., 2014; Batista et al., 2016), no entanto, o poder preditivo deste biomarcador é baixo.

A raça Holandesa apresentou número médio de oócitos superior à raça Gir, discordando de outros autores (Pontes et al., 2010; Watanabe et al., 2017). Nas raças com menor recuperação de oócitos, busca-se por fêmeas com maior potencial de produção de oócitos, promovendo uma pressão de seleção durante o processo de escolha das doadoras, o que poderia explicar o maior número médio de oócitos na raça Holandesa.

Em relação ao número médio de embriões, no presente estudo se observou a mesma tendência do número de oócitos, com *B. indicus* apresentando médias superiores a *B. taurus* e raças como Brahman e Nelore com as maiores médias entre as raças analisadas (tabela 1). O número de embriões produzidos foi relacionado ao número de oócitos em diversos estudos: na comparação entre raças (Pontes et al., 2010; Sales et al., 2015), entre os quartis de ordem crescente (Watanabe et al., 2017) e nas diferenças das concentrações de AMH entre *B. indicus* e *taurus* (Guerreiro et al., 2014; Batista et al., 2016).

Em rotinas laboratoriais comerciais, a taxa de embriões produzidos em relação ao número de oócitos recuperados varia, alcançando resultados médios entre 30 a 40%

(Pontes et al., 2010; Monteiro et al., 2017). Neste estudo, os valores médios encontrados, considerando todas as raças, foi de 30,97%. Valores acima desta taxa de embriões foram observados para as raças Brahman, Guzerá, Nelore e Tabapuã, todas com aptidão de corte e pertencentes ao grupo *B. indicus*. As maiores taxas de embriões foram obtidas nas raças Brahman (38,29%) e Tabapuã (41,01%). A taxa de embriões comumente é utilizada para determinar a eficiência da produção *in vitro* de embriões. Por hipótese, quanto maior o número de oócitos, maior seria o número de embriões; no entanto a taxa de embriões está mais associada à qualidade do que à quantidade de oócitos. Perez et al. (2016) relatam correlações genéticas de -0,36 entre número de oócitos e taxa de embriões, indicando a redução da percentagem de embriões viáveis quando selecionadas as doadoras pelo número de oócitos.

Monteiro et al. (2017), ao dividirem doadoras em dois grupos (baixo e alto número de oócitos recuperados), encontraram diferenças no número médio de oócitos recuperados e de embriões produzidos; no entanto, a taxa de embrião não diferiu entre os grupos.

Alguns estudos estratificaram seus dados por número de oócitos, mostrando as diferenças entre quartis numa mesma raça (Pontes et al., 2011; Watanabe et al., 2017; Feres et al., 2018). Nesses estudos, existem diferenças significativas entre os quartis quanto ao número de oócitos e embriões, sendo que o número de embriões produzidos é maior no quartil que apresenta a maior média do número de oócitos para todas as raças, corroborando os dados encontrados para a estratificação por quartis em todas as raças do presente estudo.

O intervalo entre valores mínimos e máximos em cada quartil é diferente entre as raças (tabela 3). Por exemplo, o intervalo do número de oócitos observado de Q1 a Q3 na raça Angus é semelhante ao observado em Q1 para a raça Brahman. Em número de embriões, o intervalo de Q1 a Q4 da raça Angus corresponde ao Q2 das raças Brahman, Nelore e Tabapuã. Portanto, a comparação de médias entre os quartis das diferentes raças deve considerar a amplitude amostral observada.

A não obtenção de embriões em rotinas da PIVE é algo esperado durante a atividade; no entanto, determinar e estimar percentuais de sessões OPU que não produziram embriões é pouco praticado entre os laboratórios. A lactação, estresse térmico, baixa recuperação de oócitos, período pós-parto, nutrição e categoria animal são fatores citados por Baruselli et al. (2016) como fatores que podem estar relacionados às sessões de OPU que não produziram embriões (Baruselli et al., 2016). Pontes et al. (2011) relatam a exclusão de dados de 94 fêmeas Nelore, de um total de 317, em decorrência da não produção de embriões ou não determinação da proporção sexual. A redução gradativa por quartil do número de sessões que não produziram embriões pode ser explicada pelas correlações altas e significativas observadas entre o número de oócitos e embriões; ou seja, quanto maior o número de oócitos, menor seria a possibilidade de não se obter embriões de uma determinada doadora. Os percentuais de sessões de OPU que não produziram embriões nesse trabalho estão relacionados com o número médio de oócitos, sendo que os maiores percentuais foram observados em *B. taurus* (Angus e Holandesa). As raças Gir e Guzerá apresentam os maiores percentuais dentre as raças de *B. indicus*, sendo estas raças de aptidão leiteira ou mista. As raças

de aptidão de corte Brahman, Tabapuã e Nelore apresentam os menores percentuais de sessões OPU que não produziram embriões e as maiores médias de oócitos.

As correlações encontradas entre o número de oócitos recuperados e o número de embriões produzidos neste estudo foram fortes e significativas. Dados controversos quanto à recuperação de oócitos sucessivas em uma mesma doadora são observados: Monteiro et al. (2017) e Gimenez et al. (2015) observaram a redução do número de oócitos recuperados após sucessivas sessões de OPU, o que não ocorreu em *B. taurus* (Petyim et al., 2003). Esse resultado poderia ser explicado pelo maior número de folículos antrais dos animais *B. indicus*, necessitando de maior número de perfurações e, conseqüentemente, maior lesão ovariana. Como no presente estudo 72% dos dados são oriundos de doadoras que tiveram apenas uma sessão de OPU, não foi possível concluir um efeito do número de sessões de OPU sobre a recuperação de oócitos.

Para número de oócitos e taxa de embriões, a correlação só foi encontrada nas raças Angus e Guzerá. Outros autores encontraram correlações positivas entre o número de folículos antrais, número de oócitos recuperados, qualidade dos oócitos e número de embriões produzido, mas não com a taxa de embriões ou prenhez (Pontes et al., 2011; Guerreiro et al., 2014; Batista et al., 2016; Feres et al., 2018).

Observar correlações altas e significativas entre o número de oócitos e embriões, e correlações baixas ou negativas e não significativas entre número de oócitos e taxa de embriões levanta um questionamento sobre o uso deste parâmetro como uma medida de eficiência na PIVE, sendo a taxa de embriões um reflexo da eficiência apenas do indivíduo e não como ferramenta para aumento da eficiência da PIVE de modo geral. Alternância entre as taxas de embriões nos quartis foram observados neste estudo e por

Watanabe et al. (2017) entre as raças, bem como, as taxas de embriões não diferiram quando o grupo genético foi dividido pelo potencial de oócitos recuperados (Guerreiro et al., 2014; Monteiro et al., 2017). É sabido que as correlações são influenciadas pelo número de dados e sua dispersão, sendo que valores extremos elevam a correlação entre as variáveis. Quando o conjunto de dados foi estratificado em quartis, por haver uma redução na dispersão dos dados, pode-se observar correlações mais fracas ou não significativas, como ocorreu na raça Angus.

A média é uma medida de tendência central. Em situações onde se observa a assimetria dos dados, a média estará deslocada em relação à moda e mediana. Mesmo a divisão por quartis não seria suficiente para entender a distribuição dos dados. O modelo matemático permite uma análise mais detalhada dos dados com relação ao seu comportamento.

Neste estudo, com o objetivo de compreender o comportamento das probabilidades de ocorrência ao longo das classes de frequências de número de oócitos, número e taxa de embriões, foram utilizados modelos matemáticos. Os modelos matemáticos são utilizados para estudar fenômenos de observação e ilustrar aspectos probabilísticos de uma determinada população, evitando um detalhamento irrelevante que possa prejudicar a interpretação do problema (Meyer, 1969; Stevenson, 1981). Para que um modelo seja considerado adequado, precisa atender a dois parâmetros: estatístico e biológico. No presente estudo, a distribuição de Weibull foi a que se ajustou, na maioria das raças, às quantidades de oócitos e embriões. Isso decorre dos valores de R^2_{adj} mais próximos de 1 e valores de P maiores que 0,05 (Qui²).

Esses resultados corroboram a distribuição dos dados observada para essas variáveis, as quais se apresentaram unimodais ou exponenciais decrescentes. Cabe salientar que a distribuição de Gauss apresenta baixa flexibilidade, sendo sempre simétrica em relação à média. Suas únicas variações concernem ao deslocamento ao longo do eixo x e alteração de sua curtose. A distribuição de Weibull é flexível e pode assumir desde uma forma exponencial, como unimodal. Assim, biologicamente essa última é mais indicada.

Na tendência unimodal assimétrica quatro conclusões são possíveis:

- a) Baixa frequência de doadoras em classes de baixa quantidade de oócitos;
- b) Alta frequência de doadoras em classes de alta quantidade de oócitos;
- c) Baixa frequência de doadoras em classes de alta quantidade de oócitos;
- d) Alta frequência de doadoras em classes de baixa quantidade de oócitos;

Na tendência exponencial negativa há apenas uma possibilidade: alta frequência de doadoras em classes de baixa quantidade de oócitos. Nessa tendência, a quantidade de doadoras reduz à medida que o número de oócitos aumenta.

É possível observar que as raças Brahman e Tabapuã apresentam tendência de distribuição unimodal assimétrica positiva e as raças Nelore, Holandesa, Gir e Guzerá apresentam tendência de distribuição exponencial negativa. A raça Angus foi a única raça que apresentou diferentes tendências na distribuição de frequências para número de oócitos (unimodal assimétrica) e número de embriões (exponencial negativa).

Entre 60 e 90% das doadoras foram observadas nas três primeiras classes de oócitos de cada raça. O modelo Weibull estima que entre 61 e 90% das doadoras estejam concentradas nas três primeiras classes, dependendo da raça.

As raças Angus, Brahman e Tabapuã apresentam a maior frequência observada e estimada pelo modelo de Weibull de doadoras na segunda classe de número de oócitos. Graficamente é possível observar que a raça Angus apresenta a concentração de sua totalidade de doadoras em classes com baixo número de oócitos se comparado com as outras raças. É possível observar um deslocamento da moda no sentido positivo nas raças Angus, Tabapuã e Brahman. Isso indica maiores concentrações de animais nas classes de maiores quantidades de oócitos.

As raças que apresentaram tendência exponencial negativa tiveram maior frequência de doadoras na primeira classe de oócitos, ou seja, a classe com menor número de oócitos. As raças de tendência exponencial negativa poderiam apresentar comportamento unimodal caso o número de classes fosse maior. No entanto, um aumento do número de classes prejudicaria a interpretação em raças como a Angus com baixa intensidade amostral.

Em ambas as tendências é possível observar que o modelo subestima as classes finais em relação ao observado nas raças Brahman, Tabapuã, Angus, Nelore e Holandesa. Neste caso o modelo não propositalmente ignora a ocorrência de casos extremos, onde um número de oócitos muito acima da média é observado na sessão de OPU de uma determinada doadora.

Foram observadas que entre 77 e 92% das doadoras estiveram nas três primeiras classes de número de embriões de cada raça. As frequências estimadas pelo modelo de Weibull são maiores na primeira classe de embriões para todas as raças, independente da tendência de distribuição. Entre 76 e 99% das frequências foram estimadas nas três primeiras classes de número de embriões pelo modelo de Weibull.

As frequências na primeira classe observada e pelo modelo de Weibull foram respectivamente menores nas raças de tendência unimodal assimétrica, Tabapuã (28/29%) e Brahman (29/30%). Já para as raças zebuínas de tendência exponencial negativa, Guzerá (36/35%), Nelore (53/53%), Gir (54/57%) e taurinas, Holandesa (64/67%) e Angus (55/73%), sendo estas as maiores frequências observadas entre as classes.

O que variou entre as raças de tendência exponencial negativa foi o número de embriões das classes, sendo o menor número de embriões nas classes da raça Angus, Gir, Guzerá, Holandesa e Nelore, respectivamente (tabela 5). Os valores máximos de embriões observados entre as raças também apresentaram uma grande variação, sendo a raça Angus a menor (n=10). O número máximo de embriões estimado pelo modelo variou entre 20 e 60 embriões, para as diferentes raças.

Autores relatam diferenças entre indivíduos no número de folículos recrutados por onda (Boni et al., 1997) com alta repetibilidade (0,85 a 0,95) desta característica durante a vida reprodutiva da fêmea. Como o elemento chave para a recuperação de oócitos é a maior população folicular, a avaliação ultrassonográfica foi apresentada como uma ferramenta de avaliação fenotípica de doadoras de maior número de folículos em *B. taurus* e *indicus* (Burns et al., 2005; Ireland et al., 2007; Ireland et al., 2008; Silva-Santos et al., 2014a, Nagai et al., 2015), relacionando o maior número de folículos a uma maior recuperação de oócitos e produção de embriões (Singh et al., 2004; Silva-Santos et al., 2014b, Santos et al., 2016; Jin et al., 2016). Considerando a alta frequência de doadoras em classes iniciais, é possível imaginar que não seja incomum a distinção de doadoras com populações foliculares maiores.

Perez et al. (2016) relatam que utilizar o número de oócitos viáveis como característica de seleção em programas de melhoramento na raça Guzerá pode ser mais efetivo devido sua forte correlação genética (0,68) com o número de embriões viáveis. Sendo assim, selecionar doadoras que estejam em classes intermediárias de números de oócitos aumentaria a eficiência da PIVE; no entanto, quanto maior a classe de número de oócitos, menor será o efetivo de rebanho para ser selecionado, ou seja, menor o número de doadoras frequentes na classe. A categorização das doadoras é possível após a primeira aspiração folicular (Perez et al., 2016), promovendo a seleção de doadoras com maior número de oócitos de acordo com o perfil racial. Uma vez que há correlação entre o número de oócitos e de embriões, faz sentido utilizar doadoras com maior quantidade de oócitos. Em função da alta repetibilidade na recuperação de oócitos (Boni et al., 1997; Burns et al., 2005; Ireland et al., 2007, 2008; Perez et al., 2016; Monteiro et al., 2017), indica-se que programas de melhoramento genético utilizem fêmeas sabidamente com maiores quantidades de oócitos recuperados, uma vez que estimativas de herdabilidade entre 0,30 e 0,56 foram descritas para raça Gir (Feres, 2015) para quantidade e qualidade de oócitos, e de 0,19 e 0,14 para número de oócitos e embriões viáveis na raça Guzerá (Perez et al., 2016). A seleção de doadoras é um ponto muito favorável a reprodução artificial para melhorar o número de embriões na PIVE; no entanto, ainda são desconhecidos os reflexos desta seleção na reprodução natural desafiando a progênie destas doadoras a campo (Souza et al., 2019).

Doadoras com baixa recuperação de oócitos podem ser associadas ao coeficiente de endogamia, que foi relacionado à redução do número de oócitos totais, viáveis e aumento do número de oócitos inviáveis na raça Gir (Feres, 2015) e Guzerá (Perez et

al., 2017b), sendo o aumento do coeficiente de endogamia no rebanho prejudicial à eficiência da PIVE.

A dificuldade em definir o comportamento da taxa de embriões através do modelo é em decorrência da categorização. Quando se trata de taxa de embriões, a raça não é o único fator a influenciar, estando relacionado a técnica utilizada em laboratório e a fatores como a qualidade dos oócitos, principalmente relacionado aos eventos extremos, como as taxas de embriões acima de 50%. Diversos fatores laboratoriais podem influenciar na qualidade dos embriões, como a qualidade dos oócitos, meio de cultivo, concentração de SFB, atmosfera gasosa, número de oócitos ou embriões cultivados por gota, sistema de cultivo embrionário (Gonçalves et al., 2007; Varago et al., 2008; Mello et al., 2016). O número de folículos e a qualidade de oócitos recuperados não foram relacionados à idade das fêmeas (Katska e Smorag, 1984), porém, a frequência de aspiração precisa ser considerada ao analisar essa relação, afetando qualidade dos oócitos (Merton et al., 2003), principalmente na observação de vacas “problema” na rotina de criatórios que utilizam a técnica.

Para estudos futuros, sugere-se a construção de modelos individuais para diferentes classes de idades, escores de condição corporal, estação do ano e fase do ciclo estral.

2.5 Conclusão

Em conclusão, animais *B. indicus* apresentam maior recuperação de oócitos, produção de embrião, taxa de embriões e menor percentual de sessões OPU/PIVE que

não produziram embriões que *B. taurus*. As raças Brahman, Nelore e Tabapuã se destacam entre os animais *B. indicus*. A raça Angus apresentou a menor eficiência em todos os parâmetros analisados. A taxa de embriões apresentou diferenças entre as raças e alternância entre os quartis nas raças, sendo indicada apenas como uma medida de eficiência do indivíduo. Aumento gradativo da média do número de oócitos e embriões em relação aos quartis é esperado. O percentual de sessões OPU/PIVE que não produziram embriões reduz gradativamente à medida que aumenta o quartil e a média do número de oócitos. Correlações fortes entre número de oócitos e embriões e número de embriões e taxa de embriões eram esperadas no total e entre os quartis.

O modelo foi uma importante ferramenta para explicar o comportamento das raças na recuperação de oócitos e na produção de embrião. A grande variação na probabilidade de ocorrência nas classes de taxas de embriões não permitiu o uso dos modelos matemáticos estudados para este conjunto de dados como modelos preditivos. O modelo permite definir a classe de recuperação de oócitos da doadora e, ao se selecionar doadoras classificadas em classes intermediárias de número de oócitos, aumentar-se-ia o número de embriões produzidos. Porém, é necessário também que seja avaliada a qualidade destes embriões produzidos.

2.6 Referências

Alvarez P, Spicer LJ, Chase CC Jr, Payton ME, Hamilton TD, Stewart RE, Hammond AC, Olson TA, Wettemann RP. Ovarian and endocrine characteristics during the estrous cycle in Angus, Brahman, and Senepol cows in a subtropical environment. *Journal of Animal Science*. 2000; 78, 1291-1302.

Barioni LG, Beltrame RT, Quirino CR, Fernandes DR. Modelos determinista e estocástico em programas de transferência de embriões em bovinos. *Asociación Latinoamericana de Producción Animal*. 2007; 15, 107-113.

Baruselli OS, Gimenes LU, Sales JNS. Fisiologia reprodutiva de fêmeas taurinas e zebuínas. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*. 2007; 31, 205-211.

Baruselli PS, Vieira LM, Sá Filho MF, Mingoti RD, Ferreira RM, Chiaratti MR, Oliveira LH, Sales JN, Sartori R. Associations of insulin resistance later in lactation on fertility of dairy cows. *Theriogenology*. 2016; 86, 263-269.

Batista EOS, Guerreiro BM, Freitas BG, Silva JCB, Vieira LM, Ferreira RM, Rezende RG, Basso AC, Lopes RNVR, Rennó FP, Souza AH, Baruselli PS. Plasma anti-mullerian hormone as a predictive endocrine marker to select *Bos taurus* (Holstein) and *Bos indicus* (Nelore) calves for *in vitro* embryo production. *Domestic Animal Endocrinology*. 2016; 54, 1-9.

Batista EOS, Macedo GG, Sala RV, Ortolani MDDV, Sá Filho MF, Del Valle TA, Jesus EF, Lopes RNVR, Rennó FP, Baruselli PS. Plasma antimullerian hormone as a predictor of ovarian antral follicular population in *Bos indicus* (Nelore) and *Bos taurus* (Holstein) heifers. *Reproduction in Domestic Animals*. 2014; 49, 448-452.

Beltrame RT, Barioni LG, Quirino CR, Dantas OD. Modelagem bioeconômica da transferência de embriões em bovinos. *Ciência Animal Brasileira*. 2010; 11, 1:32-41.

Boni R, Roelofsen MWM, Pieterse MC, Kogut J, Kruij T. Follicular dynamics, repeatability and predictability of follicular recruitment in cows undergoing repeated follicular puncture. *Theriogenology*. 1997; 48, 277-289.

Burns DS, Jimenez-Krassel F, Ireland JLH, Knight PG, Ireland JJ. Number of antral follicles during follicular waves in cattle: Evidence for high variation among animals, very high repeatability in individuals, and no inverse association with serum follicle-stimulating hormone concentrations. *Biology of Reproduction*. 2005; 73, 54-62.

Carvalho JBP, Carvalho NAT, Reis EL, Nochi M, Souza AH, Baruselli PS. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. *Theriogenology*. 2008; 69, 167-175.

Dornelles MA, Rorato PRN, Gama LTL, Breda FC, Bondan C, Everling DM, Michelotti VT, Feltes GL. Random regression models using different functions to estimate genetic parameters for milk production in Holstein Friesians. *Ciência Rural*. 2016, 46, 9: 1649-1655.

Feres LF, Siqueira LGB, Palhao MP, Santos LL, Brandão FZ, Viana JHM. Likelihood of pregnancy after the transfer of embryos derived from follicle aspiration and *in vitro* embryo production sessions with different relative efficiencies. *Animal Reproduction Science*. 2018; 193, 165-170.

Feres LFR. Efeito da eficiência na produção *in vitro* de embriões na probabilidade de prenhez e influência da endogamia na produção de oócitos em um rebanho da raça Gir. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Fluminense. 2015.

Gauss CF. *Theoria motus corporum coelestium in sectionibus conicis solem ambientum* (em latim). Hamburgo: Frid. Perthes e I. H. Besser. 1809.

Gimenes LU, Ferraz ML, Fantinato-Neto P, Chiatatti MR, Mesquita LG, Sá Filho M, Meirelles FV, Trinca LA, Rennó FP, Watanabe YF, Baruselli PS. The interval between the emergence of pharmacologically synchronized ovarian follicular waves and ovum pick-up does not significantly affect *in vitro* embryo production in *Bos indicus*, *Bos taurus*, and *Bubalus bubalis*. *Theriogenology*. 2015; 83, 385-393.

Guerreiro BM, Batista EOS, Vieira LM, Sá Filho MF, Rodrigues CA, Castro Neto A, Silveira CRA, Bayeux BM, Dias EAR, Monteiro FM, Accorsi M, Lopes RNVR, Baruselli PS. Plasma anti-mullerian hormone: an endocrine marker for *in vitro* embryo production from *Bos taurus* and *Bos indicus* donors. *Domestic Animal Endocrinology*. 2014; 49, 96-104.

Gonçalves PBD, Barreta MH, Sandri LR, Ferreira R, Antoniazzi AQ. Produção *in vitro* de embriões bovinos: o estado da arte. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*. 2007; 31, 2: 212-217.

Hidaka T, Fukumoto Y, Yamamoto S, Ogata Y, Horiuchi T. Variations in bovine embryo production between individual donors for OPU-IVF are closely related glutathione concentrations in oocytes during *in vitro* maturation. *Theriogenology*. 2018; 113, 176-182.

Ireland JJ, Ward F, Jimenez-Krassel F, Ireland JLH, Smith GW, Lonergan P, Evans ACO. Follicle numbers are highly repeatable within individual animals but are inversely correlated with FSH concentrations and the proportion of good-quality embryos after ovarian stimulation in cattle. *Human Reproduction*. 2007; 6, 1687-1695.

Ireland JLH, Scheetz D, Jimenez-Krassel F, Themmen APN, Ward F, Lonergan P, Smith GW, Perez GI, Evans ACO, Ireland JJ. Antral Follicle count Reliably predicts number of morphologically healthy oocytes and follicles in ovaries of Young adult cattle. *Biology of Reproduction*. 2008; 79, 1219-1225.

Ireland JJ, Zielak-Steciwko AE, Jimenez-Krassel F, Folger J, Bettegowda A, Scheetz D, Walsh S, Mossa F, Knight PG, Smith GW, Lonergan P, Evans ACO. Variation in the ovarian reserve is linked to alterations in intrafollicular estradiol production and ovarian biomarkers of follicular differentiation and oocyte quality in cattle. *Biology of Reproduction*. 2009; 80, 954-964.

Jin J, Ghanem N, Kim S, Choi B, Na Ha A, Lee K, Sun D, Lim H, Lee J, Kong I. Interaction of donor age, parity and repeated recovery of cumulus-oocyte complexes by *ovum pick-up* on *in vitro* embryo production and viability after transfer. *Livestock Science*. 2016; 188, 43-47.

Katska L, Smorag Z. Number and quality of oocyte in relation to age of cattle. *Animal Reproduction Science*. 1984; 7, 451-460.

McMillan WH. Statistical models predicting embryo survival to term in cattle after embryo transfer. *Theriogenology*. 1998; 50, 1053-1070.

Mello RRC, Ferreira JE, Souza SLG, Mello MRB, Palhano HB. Produção *in vitro* (PIV) de embriões em bovinos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*. 2016; 40, 2: 58-64.

Melo CMR, Packer IU, Costa CN, Machado PF, Patrício M. Valores genéticos para as produções de leite do dia do controle e da lactação na raça Holandesa com diferentes modelos estatísticos. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2007; 36, 5: 1295-1303.

Mendes PN, Muniz JA, Silva FF, Mazzini ARA. Modelo logístico difásico no estudo do crescimento de fêmeas da raça Hereford. *Ciência Rural*. 2008; 38, 7: 1984-1990.

Merton JS, Roos APW, Mullaart E, Ruigh L, Kaal L, Vos PLAM, Dieleman SJ. Factors affecting oocyte quality and quantity in commercial application of embryo Technologies in the cattle breeding industry. *Theriogenology*. 2003; 59, 651-674.

Meyer PL. Probabilidade: aplicações à estatística. Rio de Janeiro, 1974; p. 391.

Monteiro FM, Batista EOS, Vieira LM, Bayeux BM, Accorsi M, Campanholi SP, Dias EAR, Souza AH, Baruselli PS. Beef donor cows with high number of retrieved COC produce more *in vitro* embryos compared with cows with low number of COC after repeated *ovum pick-up* sessions. *Theriogenology*. 2017; 90, 54-58.

Nagai K, Yanagawa Y, Katagiri S, Nagano M. Fertilizability of oocytes derived from Holstein cows having different antrafollicle counts in ovaries. *Animal Reproduction Science*. 2015; 163, 172-178.

Perez BC, Peixoto MGCD, Bruneli FT, Ramos PVB, Balieiro JCC. Genetics analysis of oocyte and embryo production traits in Guzerá breed donors and their associations with age at first calving. *Genetics and Molecular Research*. 2016; 15, 2: 1-9.

Perez BC, Silva FF, Ventura RV, Bruneli FAT, Balieiro JCC, Peixoto MGDC. Count Bayesian models for genetic analysis of *in vitro* embryo production traits in Guzerá cattle. *Animal*. 2017a; 11, 9: 1440-1448.

Perez BC, Balieiro JCC, Ventura RV, Bruneli FAT. Inbreeding effects on *in vitro* embryo production traits in Guzerá cattle. *Animal*. 2017b; 11, 1983-1990.

Petyim S, Bage R, Hallap T, Bergqvist A -S, Rodríguez-Martínez H, Larsson B. Two different schemes of twice-weekly *ovum pick-up* in dairy heifers: effect on oocyte recovery and ovarian function. *Theriogenology*. 2003; 60, 175-188.

Pontes JHF, Silva KCF, Basso AC, Rigo AG, Ferreira CR, Santos GMG, Sanches BV, Porcinato JPF, Vieira PHS, Faifer FS, Sterza FAM, Schenk JL, Seneda MM. Large-scale *in vitro* embryo production and pregnancy rates from *Bos taurus*, *Bos indicus*, and *indicus-taurus* dairy cows using sexed sperm. *Theriogenology*. 2010; 74, 1349-1355.

Pontes JHF, Sterza FAM, Basso AC, Ferreira CR, Sanches BV, Rubin KCP, Seneda MM. *Ovum pick up, in vitro* embryo production, and pregnancy rates from a large-scale commercial program using Nelore cattle (*Bos indicus*) donors. *Theriogenology*. 2011; 75, 1640-1646.

Ratto MH, Peralta OA, Mogollon G, Strobel P, Correa J. Transvaginal ultrasound-guided cumulus oocyte complexes aspiration and *in vitro* embryo production in suckled beef and lactating dairy cattle on pasture-based management conditions. *Animal Reproduction Science*. 2011; 129, 1-6.

Sanches BV, Zangirolamo AF, Seneda MM. Intensive use of IVF by large-scale dairy programs. *Animal Reproduction*. 2019; 16, 3: 394-401.

Sales JNS, Iguma LT, Batista RITP, Quintão CCR, Gama MAS, Freitas C, Pereira MM, Camargo LSA, Viana JHM, Souza JC, Baruselli PS. Effects of a high-energy diet on oocyte quality and *in vitro* embryo production in *Bos indicus* and *Bos taurus* cows. *Journal Dairy Science*. 2015; 98, 5: 3086-3099.

Santos GMG, Silva-Santos KC, Barreiros TRR, Morotti F, Sanches BV, Moraes FLZ, Blaschi W, Seneda MM. High numbers of antral follicles are positively associated with *in vitro* embryo production but not the conception rate for FTAI in Nelore cattle. *Animal Reproduction Science*. 2016; 165, 17-21.

Sartori R, Barros CM. Reproductive cycles in *Bos indicus* cattle. *Animal Reproduction Science*. 2011; 124, 244-250.

Shorten PR, Ledgard AM, Donnison M, Pfeffer PL, McDonald RM, Berg DK. A mathematical model of the interaction between bovine blastocyst developmental stage and progesterone-stimulated uterine factors on differential embryonic development observed on day 15 of gestation. *Journal Dairy Science*. 2018, 101, 1: 736-751.

Silva-Santos KC, Siloto LS, Santos GMG, Morotti F, Marcantonio TN, Seneda MM. Comparison of antral and preantral ovarian follicle populations between *Bos indicus* and *Bos indicus-taurus* cows with high or low antral follicles counts. *Reproduction in Domestic Animals*. 2014a; 49, 48-51.

Silva-Santos KC, Santos GMG, Koetz Júnior C, Morotti F, Siloto LS, Marcantonio TN, Urbano MR, Oliveira RL, Lima DCM, Seneda MM. Antral follicle populations and embryo production – *In vitro* and *In vivo* – of *Bos indicus-taurus* donors from weaning to yearling ages. *Reproduction in Domestic Animals*. 2014b; 49, 228-232.

Simpson RB, Chase Jr CC, Spicer LJ, Vernon RK, Hamond AC, Rae DO. Effect of exogenous insulin on plasma and follicular insulin-like growth factor I, insulin-like growth factor binding protein activity, follicular estradiol and progesterone, and follicular growth in superovulated Angus and Brahman cows. *Journal of Reproduction and Fertility*. 1994; 102, 483-492.

Singh J, Domínguez M, Jaiswal R, Adams GP. A simple ultrasound test to predict the superstimulatory response in cattle. *Theriogenology*. 2004; 62, 227-243.

Souza ACC, Costa CB, Silva CB, Bergamo LZ, Morotti F, Seneda MM. Influência da contagem de folículos antrais na produção *in vitro* de embriões bovinos de doadoras *Bos indicus* e *Bos taurus* – Revisão de literatura. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*. 2019; 43, 1: 13-17.

Stevenson WJ. Estatística aplicada à administração. Editora Harbra. 1981; p. 495.

Tiezzi F, Maltecca C, Cecchinato A, Bittante G. Comparison between different statistical models for the prediction of direct genetic component on embryo establishment and survival in Italian Brown Swiss dairy cattle. *Livestock Science*. 2015; 180, 6-13.

Varago FC, Mendonça LF, Lagares MA. Produção *in vitro* de embriões bovinos: estado da arte e perspectivas de uma técnica em constante evolução. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*. 2008; 32, 2: 100-109.

Viana JHM, Figueiredo ACS, Siqueira LGB. Brazilian embryo industry in context: pitfalls, lessons, and expectations for the future. *Animal Reproduction*. 2017; 14, 3: 476-481.

Viana JHM. 2017 Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals: Is it a turning point? In 2017 more *in vitro*-produced than *in vivo*-derived embryos were transferred worldwide. *Embryo Transfer Newsletter*. 2018; 36, 4: 8-25.

Watanabe YF, Souza AH, Mingoti RD, Ferreira RM, Batista EOS, Dayan A, Watanabe O, Meirelles FV, Nogueira MFG, Ferraz JBS, Baruselli PS. *Animal Reproduction*. 2017; 14, 3: 635-644.

Weibull W, Sweden S. A statistical distribution function of wide applicability. *Journal of Applied Mechanics*. 1951; 18: 293–296.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A produção *in vitro* de embriões progrediu nas últimas décadas e atualmente é colocada em escala comercial em diversos países. O Brasil é um dos principais países a aplicar esta biotecnologia, buscando o progresso genético do rebanho bovino. A produção de animais melhorados geneticamente através da aplicação de biotecnologias é uma importante ferramenta para melhorar a eficiência econômica das propriedades. Apesar de aplicada em escala, estas biotecnologias ainda não estão completamente elucidadas e maduras, necessitando esclarecer problemas da técnica que precisam ser resolvidos e otimizados, buscando aumentar a eficiência da técnica não somente aumentando a quantidade de embriões produzidos, mas que sejam embriões com qualidade que permita aumentar o número de gestações obtidas. Os modelos matemáticos utilizados neste estudo elucidaram uma pequena fração do potencial desta biotecnologia. Conhecer o comportamento das diferentes raças na OPU-PIVE permite reconhecer o potencial dos indivíduos e da raça na recuperação de oócitos e produção de embriões, sem se iludir com os desvios biológicos extremos. Assim sendo, é possível trabalhar com a realidade de cada raça e indivíduo, sugerindo aos criadores aspectos de seleção voltados à aplicação destas biotecnologias. Além disso, este estudo abre caminho para reconhecer que processos de seleção de doadoras para número de oócitos podem ter reflexos diretos sobre a reprodução natural e, conseqüentemente, interferir nas taxas de reprodução a campo.

4. REFERÊNCIAS

Baruselli OS, Gimenes LU, Sales JNS. Fisiologia reprodutiva de fêmeas taurinas e zebuínas. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*. 2007; 31, 205-211.

Batista EOS, Guerreiro BM, Freitas BG, Silva JCB, Vieira LM, Ferreira RM, Rezende RG, Basso AC, Lopes RNVR, Rennó FP, Souza AH, Baruselli PS. Plasma anti-mullerian hormone as a predictive endocrine marker to select *Bos taurus* (Holstein) and *Bos indicus* (Nelore) calves for *in vitro* embryo production. *Domestic Animal Endocrinology*. 2016; 54, 1-9.

Batista EOS, Macedo GG, Sala RV, Ortolani MDDV, Sá Filho MF, Del Valle TA, Jesus EF, Lopes RNVR, Rennó FP, Baruselli PS. Plasma antimullerian hormone as a predictor of ovarian antral follicular population in *Bos indicus* (Nelore) and *Bos taurus* (Holstein) heifers. *Reproduction in Domestic Animals*. 2014; 49, 448-452.

Carvalho JBP, Carvalho NAT, Reis EL, Nochi M, Souza AH, Baruselli PS. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. *Theriogenology*. 2008; 69, 167-175.

Dochi O. Direct transfer of frozen-thawed bovine embryos and its application in cattle reproduction management. *Journal of Reproduction and Development*. 2019; 65, 5: 389-396.

Food Agriculture Organization (FAO). Cattle inventory. 2017. Disponível em: <http://http://www.fao.org/faostat/en/#data/QA>.

Gandhi AP, Lane M, Gardner DK, Krisher RL. A single medium supports development of bovine embryos throughout maturation, fertilization and culture. *Human Reproduction*. 2000; 15, 395-401.

Gimenes LU, Ferraz ML, Fantinato-Neto P, Chiatatti MR, Mesquita LG, Sá Filho M, Meirelles FV, Trinca LA, Rennó FP, Watanabe YF, Baruselli PS. The interval between the emergence of pharmacologically synchronized ovarian follicular waves and ovum pick-up does not significantly affect *in vitro* embryo production in *Bos indicus*, *Bos taurus*, and *Bubalus bubalis*. *Theriogenology*. 2015; 83, 385-393.

Guerreiro BM, Batista EOS, Vieira LM, Sá Filho MF, Rodrigues CA, Castro Neto A, Silveira CRA, Bayeux BM, Dias EAR, Monteiro FM, Accorsi M, Lopes RNVR, Baruselli PS. Plasma anti-mullerian hormone: an endocrine marker for *in vitro* embryo production from *Bos taurus* and *Bos indicus* donors. *Domestic Animal Endocrinology*. 2014; 49, 96-104.

Gonçalves PBD, Barreta MH, Sandri LR, Ferreira R, Antoniazzi AQ. Produção *in vitro* de embriões bovinos: o estado da arte. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*. 2007; 31, 2: 212-217.

Lonergan P, Monaghan P, Rizos D, Boland MP, Gordon I. Effect of follicle size on bovine oocyte quality and developmental competence following maturation, fertilization, and culture *in vitro*. *Molecular Reproduction Development*. 1994; 37, 48-53.

Lonergan P, Fair T. Maturation of Oocytes *in vitro*. *Annual Review of Animal Biosciences*. 2016; 4, 10.1-10.14.

Mapletoft R, Bó GA, Baruselli PS, Menchaca A, Sartori R. Evolution of knowledge on ovarian physiology and its contribution to the widespread application of reproductive biotechnologies in South American cattle. *Animal Reproduction*. 2018; 15, 1003-1014.

Mello RRC, Ferreira JE, Souza SLG, Mello MRB, Palhano HB. Produção *in vitro* (PIV) de embriões em bovinos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*. 2016; 40, 2: 58-64.

Monteiro FM, Batista EOS, Vieira LM, Bayeux BM, Accorsi M, Campanholi SP, Dias EAR, Souza AH, Baruselli PS. Beef donor cows with high number of retrieved COC produce more *in vitro* embryos compared with cows with low number of COC after repeated *ovum pick-up* sessions. *Theriogenology*. 2017; 90, 54-58.

Pontes JHF, Silva KCF, Basso AC, Rigo AG, Ferreira CR, Santos GMG, Sanches BV, Porcinato JPF, Vieira PHS, Faifer FS, Sterza FAM, Schenk JL, Seneda MM. Large-scale *in vitro* embryo production and pregnancy rates from *Bos taurus*, *Bos indicus*, and *indicus-taurus* dairy cows using sexed sperm. *Theriogenology*. 2010; 74, 1349-1355.

Pontes JHF, Sterza FAM, Basso AC, Ferreira CR, Sanches BV, Rubin KCP, Seneda MM. *Ovum pick up*, *in vitro* embryo production, and pregnancy rates from a large-scale commercial program using Nelore cattle (*Bos indicus*) donors. *Theriogenology*. 2011; 75, 1640-1646.

Ratto MH, Peralta OA, Mogollon G, Strobel P, Correa J. Transvaginal ultrasound-guided cumulus oocyte complexes aspiration and *in vitro* embryo production in suckled beef and lactating dairy cattle on pasture-based management conditions. *Animal Reproduction Science*. 2011; 129, 1-6.

Sanches BV, Zangirolamo AF, Seneda MM. Intensive use of IVF by large-scale dairy programs. *Animal Reproduction*. 2019; 16, 3: 394-401.

Sales JNS, Iguma LT, Batista RITP, Quintão CCR, Gama MAS, Freitas C, Pereira MM, Camargo LSA, Viana JHM, Souza JC, Baruselli PS. Effects of a high-energy diet on oocyte quality and *in vitro* embryo production in *Bos indicus* and *Bos taurus* cows. *Journal Dairy Science*. 2015; 98, 5: 3086-3099.

Sirard M. 40 years of bovine IVF in the new genomic selection context. *Reproduction*. 2018; 156:R1-R7.

Smetanina IG, Tatarinova LV, Krivokhardchennko AS. The effect of the composition of the culture media on bovine oocyte maturation and embryo development *in vitro*. *Ontogenez*. 2000; 31, 139-143.

Varago FC, Mendonça LF, Lagares MA. Produção *in vitro* de embriões bovinos: estado da arte e perspectivas de uma técnica em constante evolução. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*. 2008; 32, 2: 100-109.

Viana JHM. 2017 Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals: Is it a turning point? In 2017 more *in vitro*-produced than *in vivo*-derived embryos were transferred worldwide. *Embryo Transfer Newsletter*. 2018; 36, 4: 8-25.

ANEXO 1



Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação
Comissão de Ética em Pesquisa no Uso de Animais

Curitiba, 16 de maio de 2019

PARECER DE PROTOCOLO DE PESQUISA

REGISTRO DO PROJETO: 01609 – 4ª versão

TÍTULO DO PROJETO: DIFERENÇAS ENTRE RAÇAS BOVINAS NA PRODUÇÃO IN VITRO DE EMBRIÕES

PESQUISADOR RESPONSÁVEL

CRISTINA SANTOS SOTOMAIOR

EQUIPE DE PESQUISA

JOÃO FLÍPI SCHEFFER PEREIRA, SAULO WEBER

INSTITUIÇÃO

Pontifícia Universidade Católica do Paraná

ESCOLA E/OU CURSO

Escola de Ciências da Vida - Medicina Veterinária

VIGÊNCIA DO PROJETO	10/02/2018 A 30/08/2019	QUANTIDADE DE ANIMAIS	Não se aplica
ESPECIE/LINHAGEM	Bov caprin	Nº SISBIO (Somente animais de vida livre)	Não se aplica
SEXO	Dados coletados	ATIVIDADES (Somente animais de vida livre)	Não se aplica
IDADE / PESO	Dados coletados	ESPECIE – GRUPO TAXONÔMICOS (ap. ANEXO 2009)	Não se aplica
ORIGEM DO ANIMAL	Dados obtidos de banco de registro de 7892 rolhas obtencidas de laboratórios de produção in vitro de embriões.	LOCAL (RS) (Somente animais de vida livre)	Não se aplica

O colegiado da CEUA certifica que este protocolo que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto homem), para fins de pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794/2018 e Decreto nº 8.399/2009, e com as normas editadas pelo CONCEA e foi **APROVADO** pela CEUA - PUCPR em reunião de colegiado. Se houver mudança do protocolo o pesquisador deve enviar um relatório à CEUA descrevendo de forma clara e sucinta, a parte do protocolo a ser modificado e as suas justificativas. Se a pesquisa, ou parte dela, for realizada em outras instituições, cabe ao pesquisador não iniciar antes de receber a autorização formal para a sua realização. O documento que autoriza o início da pesquisa deve ser carimbado e assinado pelo responsável da instituição e deve ser mantido em poder do pesquisador responsável, podendo ser requerido por esta CEUA em qualquer tempo.

Prof. Dr. Sérgio Luiz Rocha
Coordenador - CEUA-PUCPR

Rua Imaculada Conceição, 1155 Prado Velho CEP 80.215-901 Curitiba Paraná Brasil
Telefone: (41) 3271-2293 www.pucpr.br