

LUANA FACTOR

**Efeito da receptora (vaca Holandesa em lactação ou vaca mestiça  
de corte) sobre o desempenho produtivo e reprodutivo de bezerras**

**Holandesas geradas por fertilização *in vitro***

São Paulo

2021

LUANA FACTOR

**Efeito da receptora (vaca Holandesa em lactação ou vaca mestiça de corte) sobre o desempenho produtivo e reprodutivo de bezerras Holandesas geradas por fertilização *in vitro***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

**Departamento:**

Reprodução Animal

**Área de concentração:**

Reprodução Animal

**Orientador:**

Prof. Dr. Pietro Sampaio Baruselli

**São Paulo  
2021**

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

## DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 4121  
FMVZ

Factor, Luana

Efeito da receptora (vaca Holandesa em lactação ou vaca mestiça de corte) sobre o desempenho produtivo e reprodutivo de bezerras Holandesas geradas por fertilização *in vitro* / Luana Factor. – 2021.  
91 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Reprodução Animal, São Paulo, 2021.

Programa de Pós-Graduação: Reprodução Animal.

Área de concentração: Reprodução Animal.

Orientador: Prof. Dr. Pietro Sampaio Baruselli.

1. Reprodução assistida. 2. Programação fetal. 3. Produção de leite. 4. Epigenética. I. Título.

# CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA (CEUA)



Comissão de Ética no Uso de Animais  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia  
Universidade de São Paulo

## CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Efeito da receptora (vaca holandesa em lactação ou vaca de corte) sobre o desempenho produtivo e reprodutivo de bezerras fêmeas holandesas geradas por fertilização in vitro", protocolada sob o CEUA nº 3176060519 (ID 0069338), sob a responsabilidade de **Pietro Sampaio Baruselli** e equipe; *Luana Factor* - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 01/09/2019.

We certify that the proposal "Effect of the recipient (lactating Holstein or beef cow) on the productive and reproductive performance of in vitro fertilization Holstein female calves", utilizing 500 Bovines (500 females), protocol number CEUA 3176060519 (ID 0069338), under the responsibility of **Pietro Sampaio Baruselli** and team; *Luana Factor* - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 09/01/2019.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de 04/2019 a 12/2020      Área: **Reprodução Animal**

Origem: **Animais provenientes de estabelecimentos comerciais**

Espécie: **Bovinos**      sexo: **Fêmeas**      idade: **8 a 60 meses**      N: **500**

Linhagem: **Holandesa e cruzamento industrial**      Peso: **30 a 800 kg**

Local do experimento: **Fazenda Santa Rita - Agrindus S/A Agrícola Pastoral**

São Paulo, 27 de setembro de 2021

Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna  
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade  
de São Paulo

Camilla Mota Mendes  
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade  
de São Paulo

# CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA (CEUA)



## Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia  
Universidade de São Paulo

São Paulo, 26 de setembro de 2021

CEUA N 3176060519

(ID 008340)

Ilmo(a). Sr(a).

Responsável: Pietro Sampaio Baruselli

Área: Reprodução Animal

Título da proposta: "Efeito da receptora (vaca holandesa em lactação ou vaca de corte) sobre o desempenho produtivo e reprodutivo de bezerras fêmeas holandesas geradas por fertilização in vitro".

### **CERTIFICADO (Alteração do cadastro versão de 14/setembro/2021)**

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, no cumprimento das suas atribuições, analisou e **APROVOU** a Alteração do cadastro (versão de 14/setembro/2021) da proposta acima referenciada.

Resumo apresentado pelo pesquisador: "O título encontra-se mais adequada ao tema e o número de animais é zero por ser um estudo retrospectivo de dados. "

Comentário da CEUA: Aprovado

Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna  
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade  
de São Paulo

Camilla Mota Mendes  
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade  
de São Paulo

# CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA (CEUA)



## Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia  
Universidade de São Paulo

---

### FORMULÁRIO DE ALTERAÇÃO DE DADOS

CPF: 36538396100 » 36538396100 Finalidade: Pesquisa » Pesquisa

Título da proposta (Português): Efeito da receptora (vaca holandesa em lactação ou vaca de corte) sobre o desempenho produtivo e reprodutivo de bezerras fêmeas holandesas geradas por fertilização in vitro » Efeito da receptora (vaca Holandesa em lactação ou vaca mestiça de corte) sobre o desempenho produtivo e reprodutivo de bezerras holandesas geradas por fertilização in vitro.

Título da proposta (Inglês): Effect of the recipient (lactating Holstein or beef cow) on the productive and reproductive performance of in vitro fertilization Holstein female calves » Effect of the recipient (lactating Holstein cow or crossbred beef cow) on the productive and reproductive performance of Holstein calves generated by in vitro fertilization

Responsável: Pietro Sampaio Baruselli » Pietro Sampaio Baruselli

Celular: 16 99228-4770 » 16 99228-4770 e-mail: barusell@usp.br » barusell@usp.br

CV. Lattes: <http://lattes.cnpq.br/3689380418823388> » <http://lattes.cnpq.br/3689380418823388>

Área: Reprodução Animal » Reprodução Animal Campus: FMVZ - campus SP » FMVZ - campus SP

Experiência: Sim : 40 » Sim : 40 Treinamento: Sim : 480 » Sim : 480

Vínculo: Professor titular » Professor titular

Obj. Acadêmico: Mestrado » Mestrado Patente: Sim » Sim

Patrocínio: Ausente » Ausente Patrocinador: »

Chefe de Depto: José Antonio Visintin » José Antonio Visintin e-mail: visintin@usp.br » visintin@usp.br

Resumo: O título encontra-se mais adequada ao tema e o aumento na quantidade de animais é pelo fato do estudo ser retrospectivo de dados, onde pudemos obter mais informações dos animais com uma nova análise do sistema operacional da Fazenda.

## FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: FACTOR, Luana

Título: Efeito da receptora (vaca Holandesa em lactação ou vaca mestiça de corte) sobre o desempenho produtivo e reprodutivo de bezerras Holandesas geradas por fertilização *in vitro*

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção de título de Mestre em Ciências

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

### Banca Examinadora

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

## DEDICATÓRIA

À *Deus*, pela vida, saúde e determinação que sempre me fizeram ter disposição e força de vontade para delinear e buscar meus objetivos.

Aos meus pais, *Sebastião* e *Darlene*, por sempre me darem todo o amor e apoio que pais podem dar a um filho.

Aos meus irmãos, *Diego* e *Lucas*, por serem parceiros e companheiros em todos os meus objetivos.

Ao meu orientador de mestrado, *Pietro Sampaio Baruselli*, por ser pessoa e profissional admirável, que sempre confiou em meu empenho e têm me guiado durante minha trajetória acadêmica e profissional.

## AGRADECIMENTOS

Aos *meus pais, Sebastião e Darlene*, obrigada pelo carinho e pela educação de valores pessoais e profissionais. Tudo o que sou, o que faço e o que tenho é integralmente devido a vocês e por vocês.

Aos meus irmãos, *Diego e Lucas*, obrigada por me apoiarem e me ajudarem a ser uma pessoa sempre melhor. Tenho muito orgulho da nossa união.

À *minha família*, pelo apoio, orações e compreensão incondicionais durante toda a minha trajetória de estudos.

Ao professor *Pietro Baruselli*, por ter sido um mestre e orientador pessoal e profissional. Professor, obrigada por ter me orientado durante o mestrado e por ter sido um exemplo de dedicação que levarei para toda minha vida profissional. Obrigada pela confiança, paciência e conselhos, você sempre será meu eterno mestre. Sou muito grata a você por todo o período em que pude te acompanhar, você com certeza foi o norte para a minha direção.

À *CAPES*, pelo presente trabalho realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil - Código de Financiamento 001.

À querida *Agrindus (Fazenda Santa Rita)*, por ter me aberto as portas e por ter permitido com que eu aprendesse e contribuísse com a produção de leite. Ao *Roberto Jank*, obrigada por ter permitido com que eu analisasse os dados de sua fazenda e com que eu pudesse trabalhar nela com toda a liberdade. Aos funcionários obrigada por terem me ensinado tanto sobre as vacas de leite, vocês são muito especiais em minha vida e guardo cada um com muito carinho em meus pensamentos. Ao Médico Veterinário *Carlão*, obrigada por ter me acolhido, me ensinado e permitido com que eu o ajudasse em tudo o possível. Sou muito grata a você por todo o período em que pude te acompanhar.

Às *vacas de leite*, obrigada por terem me ensinado tanto sobre a vida e sobre a produção animal. Darei o meu melhor profissionalmente para uma melhor qualidade de vida compartilhada entre os animais e os seres humanos.

*“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.” (Arthur Schopenhauer)*

## RESUMO

FACTOR, L. **Efeito da receptora (vaca Holandesa em lactação ou vaca mestiça de corte) sobre o desempenho produtivo e reprodutivo de bezerras Holandesas geradas por fertilização *in vitro***. 2021. 91f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021.

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da receptora Holandesa em lactação (*Bos taurus* - 33,0 litros/vaca/dia) ou receptora mestiça de corte não lactantes (com predominância para as raças zebuínas - *Bos indicus*) sobre a performance produtiva e desempenho reprodutivo de progênes holandesas geradas após a transferência de embrião produzido por fertilização *in vitro* (TE-*in vitro*). O estudo foi realizado na Fazenda Santa Rita - Agrindus S.A. em Descalvado, São Paulo, Brasil. As receptoras Holandesas em lactação foram mantidas em galpões com canteiros de areia, modelo *free stall*, com ventilação adequada e aspersores na linha de cocho. As vacas mestiças de corte foram mantidas a pasto com suplementação proteica e água *ad libitum*. Foram avaliadas as seguintes variáveis nas receptoras de corte e de leite (n=9.829) entre 2013 e 2018: taxa de gestação aos 60 dias (TG 60), taxa de aborto e natimorto (TA), taxa de nascimento (TN) e a duração da gestação das receptoras (DUGr). Avaliou-se também o desempenho da progênie filhas das receptoras de leite (n=490) e das filhas das receptoras do corte (n=475), analisando as seguintes variáveis: índice genômico para produção de leite (IG; *Clarifide* Holandês®), peso ao nascimento (PN) e peso ao desmame (PD). Avaliou-se também os dados reprodutivos da primeira gestação, como a idade à concepção (IP-CON), duração da gestação (DUG), taxa de aborto e natimorto (AB), taxa de auxílio no parto (AUX-PAR) e idade no parto (IP-PAR). Foram também analisados os dados produtivos da primeira lactação, como a produção de leite ajustada em 305 dias (PL305), pico de produção de leite (PICO-LACT) e a duração da lactação (DUR-LAC). Todas as análises foram realizadas utilizando o software *Statistical Analysis System* (SAS, *Version 9.4 for Windows*; SAS Inst., Cary, NC), considerando valor estatístico  $P < 0,05$ . Houve efeito estatístico da receptora apenas para a variável TN [leite: 67,5% (661/966); corte: 83,1% (1664/2003);  $P < 0,0001$ ], a qual foi maior para as receptoras do corte. Houve interação receptora\*ano para PN [leite:  $35,8 \pm 0,16$ kg (n=426); corte:  $34,4 \pm 0,09$ kg (n=406);  $P = 0,0199$ ]. Houve efeito de ano nas variáveis IP-CON ( $P < 0,0001$ ), AB ( $P = 0,0002$ ), AUX-PAR ( $P = 0,0008$ ), PL305 ( $P = 0,0224$ ) e PICO-LACT ( $P = 0,0048$ ). Já para as variáveis IG, PD, DUG, IP-PAR e DUR-LACT não houve interação

receptora\*ano, assim como não houve efeito significativo para receptora e para ano. A TG 60 e a TA foram semelhantes entre as receptoras de corte e de leite. Entretanto, a TN e a DUGr foram menores em receptoras de corte. Para as progênes, não foram observados efeitos no desempenho reprodutivo e produtivo de filhas de receptoras de corte quando comparado com receptoras de leite. Tais resultados são indicativos de que não foi possível identificar efeitos das diferentes raças de receptoras utilizadas nas performances das progênes. Os dados do presente estudo suportam a utilização das receptoras de leite ou de corte para a reprodução e produção dos rebanhos, sem evidenciar possíveis efeitos epigenéticos negativos na prole. Entretanto, mais estudos são necessários para esclarecer os efeitos da raça e do manejo das receptoras de embrião sobre as potenciais consequências de longo prazo no desempenho da progênie.

Palavras-chave: Reprodução assistida, programação fetal, produção de leite, epigenética.

## ABSTRACT

FACTOR, L. **Effect of the recipient (lactating Holstein cow or crossbred beef cow) on the productive and reproductive performance of Holstein calves generated by *in vitro* fertilization.** 2021. 91f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, University of São Paulo, São Paulo, 2021.

The aim of this study was to evaluate the effect of lactating Holstein recipient (*Bos taurus* - 33.0 liters/cow/day) or non-lactating crossbred beef recipient (with a predominance of Zebu breeds - *Bos indicus*) on productive performance and performance breeding of Dutch progenies generated after embryo transfer produced by *in vitro* fertilization (TE-*in vitro*). The study was carried out at Fazenda Santa Rita - Agrindus S.A. in Descalvado, São Paulo, Brazil. The lactating Dutch recipients were kept in sheds with sand beds, free stall model, with adequate ventilation and sprinklers in the trough line. Crossbred beef cows were kept on pasture with protein supplementation and water *ad libitum*. The following variables were evaluated in meat and milk recipients (n=9,829) between 2013 and 2018: pregnancy rate at 60 days (TG 60), abortion and stillbirth rate (TA), birth rate (TN) and the duration of pregnancy of recipients (DUGr). The performance of the progeny daughters of milk recipients (n=490) and of the daughters of cut recipients (n=475) was also evaluated, analyzing the following variables: genomic index for milk production (GI; Clarifide Holstein®), birth weight (PN) and weaning weight (PD). Reproductive data from the first pregnancy were also evaluated, such as age at conception (IP-CON), duration of pregnancy (DUG), abortion and stillbirth rate (AB), birth assistance rate (AUX-PAR) and age in childbirth (IP-PAR). Productive data from the first lactation were also analyzed, such as milk production adjusted to 305 days (PL305), peak milk production (PICO-LACT) and duration of lactation (DUR-LAC). All analyzes were performed using the Statistical Analysis System software (SAS, Version 9.4 for Windows; SAS Inst., Cary, NC), considering a statistical value of  $P < 0.05$ . There was a statistical effect of the recipient only for the TN variable [milk: 67.5% (661/966); cut: 83.1% (1664/2003);  $P = < 0.0001$ ], which was higher for cut recipients. There was a receptor\*year interaction for PN [milk:  $35.8 \pm 0.16$ kg (n=426); cut:  $34.4 \pm 0.09$ kg (n=406);  $P = 0.0199$ ]. There was an effect of year on the variables IP-CON ( $P = < 0.0001$ ), AB ( $P = 0.0002$ ), AUX-PAR ( $P = 0.0008$ ), PL305 ( $P = 0.0224$ ) and PICO-LACT ( $P = 0.0048$ ). As for the variables IG, PD, DUG, IP-PAR and DUR-LACT there was no receptor\*year interaction, as well as there was no significant effect for recipient and year. TG

60 and TA were similar between beef and milk recipients. However, TN and DUGr were lower in cut recipients. For the progenies, no effects were observed on the reproductive and productive performance of meat recipient daughters when compared to milk recipients. These results indicate that it was not possible to identify the effects of the different breeds of recipients used in the performance of the progenies. The data from the present study support the use of milk or meat recipients for the reproduction and production of herds, without showing possible negative epigenetic effects on the offspring. However, further studies are needed to clarify the effects of breed and management of embryo recipients on potential long-term consequences on offspring performance.

Keywords: Assisted reproduction, fetal programming, milk production, epigenetics.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Modelo descritivo da hipótese das receptoras (corte ou leite) submetidas a TE-in vitro. .....	32
Figura 2: Modelo descritivo da hipótese dos possíveis efeitos no desempenho reprodutivo e produtivo na progênie (filha de receptora do corte ou do leite) geradas pela TE-in vitro. ....	33
Figura 3: Delineamento experimental das variáveis analisadas nas receptoras Holandesas em lactação (leite) e receptoras mestiças do corte (corte) submetidas a TE-in vitro nos anos de 2013 a 2018. ....	36
Figura 4: Delineamento experimental das variáveis analisadas nas progênies filhas de receptoras Holandesas em lactação (leite) ou filhas de receptoras mestiças do corte (corte) nos anos de 2013 a 2018. ....	37
Figura 5: Protocolos de transferência de embrião (TE) após observação de estro ou de transferência de embrião em tempo fixo (TETF) em vacas Holandesas em lactação, para embriões produzidos in vitro. BE: benzoato de estradiol; GnRH: hormona libertadora de gonadotrofina; Implante: implante de progesterona auricular; PGF2: prostaglandina; eCG: Gonadotrofina coriônica equina; CE: cipionato de estradiol. ....	40
Figura 6: Taxa de gestação aos 60 dias (TG 60) de receptoras do corte (média de 32,97% [2003/6075]) e receptoras do leite (média de 25,73% [966/3754]) submetidas à TE-in vitro nos anos de 2013 a 2018. ....	47
Figura 7: Taxa de aborto e natimorto (TA) de receptoras do corte (média de 16,9%; 339/2003) e receptoras do leite (média de 25,6%; 248/966) submetidas à TE-in vitro nos anos de 2013 a 2018. ....	50
Figura 8: Taxa de nascimento (TN) de acordo com a raça da receptora (A; corte e leite) e o ano (B; 2013 a 2018). As receptoras receberam um embrião da raça Holandesa produzido in vitro. ....	52
Figura 9: Duração da gestação da receptora (DUGr) por raça da receptora (A; corte e leite) e por ano (B; 2013 a 2018). As receptoras receberam um embrião da raça Holandesa produzido in vitro. ....	54

Figura 10: Índice genômico para produção de leite (IG) da progênie provenientes de receptoras do leite [média de 50,9 litros (n=30)] ou do corte [média de 167,8 litros (n=41)] nos anos de 2013 a 2018 geradas pela TE-in vitro. ....	57
Figura 11: Peso ao nascimento (PN) das progênie filhas de receptoras do corte ou do leite nos anos de 2013 a 2018 geradas após a TE-in vitro.....	59
Figura 12: Peso ao desmame (PD) das progênie filhas de receptoras do leite ou do corte nos anos de 2013 a 2018.....	60
Figura 13: Idade à concepção (IP-CON) das novilhas filhas de receptoras do corte ou de leite nos anos de 2013 a 2018 geradas pela TE-in vitro. ....	61
Figura 14: Duração da gestação (DUG) das novilhas filhas de receptoras de corte ou de leite nos anos de 2013 a 2018 geradas pela TE-in vitro. ....	62
Figura 15: Taxa de aborto e natimorto (AB, %) das novilhas filhas de receptoras de leite ou de corte nos anos de 2013 a 2018 geradas pela TE-in vitro. ....	63
Figura 16:Taxa de auxílio no parto (AUX-PAR) das novilhas filhas de receptoras de leite ou de corte nos anos de 2013 a 2018 geradas pela TE- in vitro. ....	64
Figura 17:Idade no parto (IP-PAR) das primíparas filhas de receptoras do leite ou de corte nos anos de 2013 a 2018 geradas pela TE-in vitro. ....	65
Figura 18: Produção de leite da primeira lactação ajustada em 305 dias (PL305) das primíparas filhas de receptoras de leite ou de corte, nos anos de 2013, 2014, 2015 e 2017 geradas por TE-in vitro.....	66
Figura 19: Pico de produção de leite (PICO-LACT) das primíparas filhas de receptoras de leite ou de corte, nos anos de 2013, 2014, 2015 e 2017 geradas por TE-in vitro. ....	68
Figura 20:Duração da lactação (DUR-LACT) das primíparas filhas de receptoras de leite ou de corte, nos anos de 2013, 2014, 2015 e 2017 geradas por TE-in vitro.....	69

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1: Taxa de gestação aos 60 dias (TG 60), taxa de aborto e natimorto (TA) e taxa de nascimento (TN) de receptoras de leite (n=3.754) e de receptoras de corte (n=6.075) submetidas à TE-in vitro nos anos de 2013 a 2018..... 46
- Tabela 2: Duração da gestação (DUGr) de receptoras Holandesas em lactação (leite) e receptoras mestiças do corte (corte) submetidas à TE-in vitro nos anos de 2013 a 2018..... 53
- Tabela 3: Análise das variáveis informação genética para produção de leite (IG, litros), peso ao nascimento (PN, kg), peso ao desmame (PD, kg), idade à concepção (IP-CON, dias), duração da gestação (DUG, dias), taxa de aborto e natimorto (AB, %), taxa de auxílio no parto (AUX-PAR, %), idade no parto (IP-PAR, dias), produção de leite ajustada em 305 dias (PL305, litros), pico de produção de leite (PICO-LACT, litros) e a duração da lactação (DUR-LAC, dias), por categoria animal (filhas de receptoras de leite ou de corte) geradas por TE-in vitro nos anos de 2013 a 2018..... 56

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	17
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	22
2.1. FISIOLOGIA REPRODUTIVA DA FÊMEA BOVINA .....	22
2.2. INDICADORES DE EFICIÊNCIA REPRODUTIVA EM NOVILHAS E PRIMÍPARAS HOLANDESAS .....	23
2.2.1. Novilhas .....	23
2.2.2. Primíparas em lactação.....	24
2.3. TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES.....	26
2.3.1. Números da produção de embriões <i>in vitro</i> .....	28
2.3.2. Programação fetal: alterações epigenéticas na funcionalidade da placenta	29
3. HIPÓTESES .....	32
3.1. DESEMPENHO REPRODUTIVO DAS RECEPTORAS (VACA HOLANDESA EM LACTAÇÃO OU MESTIÇA DO CORTE) SUBMETIDAS À TE- <i>IN VITRO</i> .....	32
3.2. DESEMPENHO REPRODUTIVO E PRODUTIVO DA PROGÊNIE (FÊMEA HOLANDESA) PRODUZIDA POR TE- <i>IN VITRO</i> .....	33
4. OBJETIVOS .....	34
5. MATERIAIS E MÉTODOS.....	35
5.1. FAZENDA E ANIMAIS.....	35
5.2. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	36
5.3. MANEJO REPRODUTIVO DAS DOADORAS E RECEPTORAS DE EMBRIÃO.....	38
5.3.1. Doadoras de oócitos (TE- <i>in vitro</i> ).....	38
5.3.2. Aspiração folicular (OPU) e produção de embriões <i>in vitro</i> .....	38
5.3.3. Receptoras de embrião (TE- <i>in vitro</i> ).....	40
5.3.4. Transferência de embriões produzidos <i>in vitro</i> .....	41
5.4. DIAGNÓSTICO DE GESTAÇÃO.....	41
5.5. MANEJO DA PROGÊNIE .....	41
5.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	42
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
6.1. DESEMPENHO REPRODUTIVO DAS PROGENITORAS .....	45
6.1.1. Taxa de gestação aos 60 dias.....	47
6.1.2. Taxa de aborto e natimorto.....	49

6.1.3.	Taxa de nascimento .....	52
6.1.4.	Duração da gestação .....	53
6.2.	DESEMPENHO REPRODUTIVO E PRODUTIVO DAS PROGÊNIES ....	54
6.2.1.	Índice genômico para produção de leite.....	57
6.2.2.	Peso ao nascimento .....	58
6.2.3.	Peso ao desmame .....	60
6.2.4.	Idade à concepção .....	61
6.2.5.	Duração da gestação.....	62
6.2.6.	Taxa de aborto e natimorto.....	63
6.2.7.	Taxa de auxílio no parto.....	64
6.2.8.	Idade no parto.....	65
6.2.9.	Produção de leite ajustada em 305 dias.....	66
6.2.10.	Pico de produção de leite .....	68
6.2.11.	Duração da lactação .....	69
7.	CONCLUSÕES .....	70
8.	CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	71
9.	REFERÊNCIAS.....	72

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil tem uma vasta extensão territorial, é o quinto maior país do mundo e equivale a 47% do território sul-americano, de acordo com dados da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (*Food And Agriculture Organization* – FAO, 2019). Essas condições favorecem a produção de alimentos e suportam o crescimento do setor agropecuário, segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2019). Na atualidade, a agropecuária é um dos sustentáculos do Produto Interno Bruto (PIB) brasileiro.

Diversos estudos apontam que conforme aumenta o PIB per capita ocorre elevação da demanda por produtos de origem animal em quantidade, qualidade, que seja seguro, que tenha origem e são rastreáveis, o que destaca a projeção para o aumento na produção de alimentos, podendo chegar a 70% (FAO, 2009). Assim como, a população mundial também deve aumentar, a qual está projetada para um crescimento de 29% até 2050, atingindo 9,8 bilhões de pessoas (UNDESA, 2019), sendo 70% dessa população urbana (UNDESA, 2018).

O Brasil conta com todos os ingredientes naturais para ser uma importante região produtora da pecuária, com suas extensas áreas de pastagens, clima favorável e um uso racional de insumos que inclui grãos e fertilizantes. Pesquisas do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (*United States Department of Agriculture* – USDA, 2018) afirmam que o rebanho bovino brasileiro em 2018 teve um estoque de 232,35 milhões de cabeças, com um aumento de 2,79% em relação ao ano de 2017 (226,04 milhões de cabeças). E acrescenta que há aproximadamente 25 milhões de fêmeas produtoras de leite.

Vale destacar que a pecuária leiteira é de fundamental importância para o setor agropecuário brasileiro. Em 2017, a produção de leite foi de 34,9 bilhões de litros. Já para 2018, chegou a 35,8 bilhões de litros, representando um aumento em relação à registrada no ano anterior (IBGE, 2019).

No entanto, o país apresenta ainda baixa produtividade de leite com média de 1.963 litros/vaca/ano (IBGE, 2018), demonstrando baixa eficiência e produtividade do setor, considerando o elevado potencial produtivo do país. Ainda, o Brasil não é autossuficiente na produção de leite, tendo gerado a importação de 142,4 mil toneladas de produtos lácteos em 2019 para abastecer a demanda do mercado interno (CEPEA,

2020). Já os Estados Unidos da América produzem 10,4 mil kg de leite/vaca/ano (EMBRAPA, 2019).

Sobre as raças bovinas produtoras de leite, a raça Holandesa, conhecida como *Holstein Frisian* nos Estados Unidos e como *British Holstein* na Inglaterra, é a raça europeia mais disseminada no mundo e com excelente potencial para produção. Entretanto, essa raça exige manejo diferenciado em clima tropical. No Brasil, existem muitas raças de corte, com predominância para raças zebuínas, que são adaptadas aos trópicos (IEPEC, 2016). Essas características possibilitam a utilização de fêmeas de corte como receptoras de embrião para a reprodução de progênes da raça holandesa.

Visando uma produção sustentável e diante dessa situação, melhorias na eficiência reprodutiva e produtiva se tornam necessárias (JUENGEL et al., 2021). Portanto, as biotecnologias da reprodução têm sido aplicadas para o melhoramento genético e como estratégia de manejo reprodutivo na pecuária brasileira e mundial. A transferência de embriões (TE) é uma biotécnica que introduz a linhagem materna no processo de melhoramento genético, além da linhagem paterna, aumentando a intensidade da seleção (KANIYAMATTAM et al., 2017).

Dentre outras vantagens da TE, destaca-se o aumento na fertilidade de vacas repetidoras de serviço e de vacas durante períodos de estresse calórico, quando comparado com a inseminação artificial (IA; BARUSELLI et al., 2011; RASMUSSEN et al., 2013; BONILLA et al., 2014). Ainda, a transferência de embriões em tempo fixo (TETF) aumenta a taxa de aproveitamento de receptoras e a taxa de prenhez, assim como elimina a necessidade de detecção de estro, facilitando o manejo e aumentando a eficiência reprodutiva, principalmente de vacas repetidoras de cio e em estresse calórico (RODRIGUES et al., 2010; BARUSELLI et al., 2020).

A TE é uma biotécnica que possui grande capacidade de crescimento em nosso país. Entretanto, um dos grandes entraves para o aumento da utilização da TE como ferramenta reprodutiva nas propriedades rurais é a falta de conhecimento sobre a técnica e a difícil implantação em fazendas que não possuem instalações, serviços à campo e laboratórios apropriados. De acordo com Viana, (2018), de 1995 a 2010 a produção mundial de embriões bovinos cresceu e atingiu 300.000 embriões, especialmente devido ao crescimento da produção *in vitro* de embriões (PIVE). Ainda, o autor informa que de 1.487.343 embriões transferidos no mundo em 2017, 66,7% foram produzidos *in vitro* e

34% produzidos na América do Sul, sendo que 76,2% no Brasil. Essas informações colocam nosso país em destaque na adoção dessa tecnologia inovadora.

A PIVE tem alcançado expressivo avanço nos últimos anos, favorecendo em um curto espaço de tempo a seleção, a multiplicação e a disseminação de animais de alta qualidade genética e com elevado potencial produtivo, impulsionando o progresso do setor leiteiro no país (BONILLA et al., 2014; HANSEN, 2014; BARUSELLI et al., 2018), podendo ainda pré-determinar o sexo do embrião (ARAUJO et al., 2013). É imprescindível a seleção de doadoras e de touros de alto valor genético para aumentar a velocidade e intensidade de seleção dos rebanhos (KANIYAMATTAM et al., 2017).

Entretanto, as receptoras de embriões são também fundamentais para viabilizar o programa de TE. De forma geral, as receptoras são fêmeas de baixo valor genético, mas precisam estar aptas reprodutivamente e sincronizadas para receber um embrião produzido *in vitro*. Estudos apontam que a raça da receptora, além de alguns fatores extrínsecos (estado metabólico, estresse térmico, nutricional, etc) possuem efeito na eficácia da técnica e produto final (DEMETRIO et al., 2007; BARUSELLI et al., 2012).

O uso de sêmen sexado na PIVE apresenta melhores resultados quando comparado com seu uso na IA após a detecção do estro (PELLEGRINO et al., 2016) ou na superovulação para produção de embriões *in vivo* na superovulação (SOV; SOARES et al., 2011).

Modificações no ambiente materno durante esse período da gestação podem resultar em alterações no crescimento e funcionalidade da placenta das receptoras, e podem aumentar a incidência de perda gestacional, de morbidade e de mortalidade perinatais, da síndrome do feto anormal/feto gigante e levar à maiores taxas de distocias e retenções de placenta (FARIN et al., 2006; DESHMUKH et al., 2012; BONILLA et al., 2014; SIQUEIRA et al., 2017).

Muitos aspectos relacionados à fisiologia reprodutiva da fêmea permanecem desconhecidos, principalmente aqueles ligados as diferenças entre as subespécies (*Bos taurus* vs. *Bos indicus*), bem como as características relacionadas à população folicular ovariana e sua influência com a fertilidade do rebanho bovino (ZANGIROLAMO et al., 2017).

Autores afirmam que há diferenças nas características fisiológicas entre as raças *Bos indicus* e *Bos taurus*, com indicações de que fêmeas *B. indicus* apresentam maiores quantidades de oócitos, número de blastocistos e taxas de blastocistos quando comparados

com *Bos taurus* (BARUSELLI et al., 2007; SARTORI et al., 2010; SARTORI et al., 2016a). No início de cada onda de crescimento folicular são recrutados, em média, 18 a 24 folículos antrais nos ovários de bovinos *B. taurus* (GINTHER et al., 1996; IRELAND et al., 2007), enquanto em *B. indicus*, há relatos de contagem de 40 a 50 folículos (ALVAREZ et al., 2000; BURATINI et al., 2000; GIMENES et al., 2009; SARTORI et al., 2010).

Embora essas diferenças entre raças têm sido sugeridas como sendo devido a diferenças nas concentrações circulantes de insulina e IGF-I (SARTORI et al., 2010; SARTORI & BARROS, 2011), também é possível que surjam devido as diferenças no ambiente materno durante a gestação e/ou a nutrição pré-natal e/ou a saúde individual de cada vaca (MOSSA et al., 2009; SULLIVAN et al., 2009).

Nos últimos anos houve crescentes evidências científicas, em diferentes espécies de mamíferos, que associaram relação da PIVE com distúrbios epigenéticos nos embriões, os quais estão relacionados principalmente às alterações no desenvolvimento (SHI & HAAF, 2002; MAK et al., 2010; OSBORNE-MAJNIK et al., 2013).

Há importante reprogramação epigenética durante a gametogênese e o período pré-implantacional do embrião, especialmente em genes impressos, definidos por sua origem parental (FAULK & DOLINOY, 2011; DE WAAL et al., 2012). Esse período tem uma janela e mudanças ambientais podem alterar o processo de reprogramação e, assim, afetar a sobrevivência e o desenvolvimento inicial e tardio dos embriões (MAK et al., 2010; MACDONALD, 2012).

A descoberta dos mecanismos epigenéticos que controlam a expressão gênica, em nível molecular, tem sido muito útil para entender e detectar possíveis alterações no fenótipo dos animais (HOLLIDAY, 2002; INBAR-FEIGENBERG et al., 2013). Alguns dos mecanismos conhecidos hoje que podem explicar essas alterações são: metilação de citosina-adenina; modificações de histonas e o controle que diferentes microRNA têm sobre a expressão gênica (KIM et al., 2009; SKINNER, 2011; INBAR-FEIGENBERG et al., 2013).

Na atualidade existe uma enorme quantidade de informações sobre as alterações que podem ocorrer em embriões produzidos *in vitro*, devido principalmente à manipulação e condições ambientais artificiais associadas a essa biotecnologia (LUCAS, 2013). Um estudo recente demonstrou que as alterações epigenéticas associadas às concentrações circulantes de gonadotrofinas também se correlacionam com

comprometimento e o desenvolvimento fetal e placentário, além de produzir um conceito menor ao longo da gestação (GRAZUL-BILSKA et al., 2013).

Sendo assim, existem evidências de que a superovulação, a cultura e fertilização de oócitos *in vitro* podem produzir alterações epigenéticas no ovócito e no embrião, podendo afetar o desenvolvimento da gestação e a eficiência produtiva. Sendo assim, estudos relacionados a influência da receptora de embrião no desempenho produtivo e reprodutivo da progênie são de grande importância para evitar possíveis problemas com essa biotecnologia.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. FISIOLOGIA REPRODUTIVA DA FÊMEA BOVINA

Visando a produção eficaz de leite os sistemas tecnificados têm como propósito o feito de um parto ao ano seguido de uma lactação de 305 dias de duração. Contudo, à seleção de vacas pela produção de leite por ano é um grande desafio a ser aprimorado e a eficiência reprodutiva das vacas em lactação merece destaque. Diversos fatores já foram correlacionados com a baixa fertilidade em vacas de leite, tais como, sanidade (VANROOSE et al., 2000; ZANGIROLAMO et al., 2017), genética (BUABAN et al., 2015), nutrição (ADAMIAK et al., 2005; LEROY et al., 2008; KAWASHIMA et al., 2012; SALES et al., 2015), ambiência (WALSH et al., 2014; PAVANI et al., 2015) produção de leite e metabolismo (DE VRIES & VEERKAMP, 2000; KAWASHIMA et al., 2007; LOMANDER et al., 2012). Sendo assim, existem vários desafios para alcançar elevada eficácia reprodutiva em vacas de leite. Com isso, é necessário conhecimento sobre a fisiologia reprodutiva da fêmea bovina para que sejam aplicadas adequadamente as biotécnicas reprodutivas para oferecer superior eficácia reprodutiva e ganho genético dos rebanhos (THATCHER, 2017).

O ciclo estral é marcado pelo padrão cíclico de eventos reprodutivos da atividade ovariana e determina o tempo de receptibilidade sexual, que culmina em uma gestação. Depois da puberdade, as fêmeas bovinas apresentam ciclos com durabilidade de 18 a 24 dias que são caracterizados por duas fases distintas: 1) fase luteínica, definida pela ovulação de um folículo dominante (FD) simultaneamente com a seguinte constituição e comparecimento do corpo lúteo (CL) e, 2) fase folicular, definida pela regressão do CL juntamente com a formação do próximo FD que irá formar a próxima ovulação (FORDE et al., 2011).

O crescimento dos folículos ovarianos acontece em forma de ondas. Verifica-se, geralmente, a participação de duas ondas de crescimento folicular por ciclo estral em fêmeas bovinas *Bos taurus* e de duas ondas de crescimento folicular por ciclo estral em vacas *Bos indicus* e de três ondas de crescimento folicular por ciclo estral em novilhas *Bos indicus* (GINTHER et al., 1989a; FIGUEIREDO et al. 1997). Durante o desenvolvimento folicular são evidenciadas as fases de recrutamento, seleção e dominância. Em uma onda de desenvolvimento folicular se verifica o crescimento de um

grupo de folículos antrais relacionado ao estímulo de hormônios gonadotrópicos (ROCHE, 1996). No período de recrutamento, estudos evidenciaram que os folículos antrais se tornam responsáveis ao hormônio folículo estimulante (FSH) e crescem até o instante em que um dos folículos recrutados se torna dominante e os outros subordinados entram em atresia (GINTHER et al., 1989b). Os folículos subordinados entram em atresia por causa do feedback negativo à liberação de FSH causado pela inibina e através do estrógeno produzidos por FD em crescimento. Esse acontecimento fisiológico chamado de seleção permite que apenas folículo responsivo ao hormônio luteinizante (LH) continue crescendo, caracterizando o período de dominância folicular. Justo à alta concentração de progesterona (P4) produzida pelo CL originário da ovulação do ciclo antecedente, há um feedback negativo para a liberação do pico de LH juntamente com o bloqueio da ovulação. Dessa forma, o FD entra em atresia e tem o começo de uma nova onda de desenvolvimento folicular. Com o retrocesso do CL, e também diminuição na concentração circulante de P4, ocorre mudanças fisiológicas que permitem a liberação de um pico de LH para que ocorra a ovulação do FD, dando começo a um ciclo estral novo (MAPLETOFT et al., 2009; COLAZO & MAPLETOFT, 2014).

## 2.2. INDICADORES DE EFICIÊNCIA REPRODUTIVA EM NOVILHAS E PRIMÍPARAS HOLANDESAS

### 2.2.1. Novilhas

A determinação da sustentabilidade do processo de produção de leite tem começo com uma competente produção de novilhas para que, caso se tornem vacas em lactação, mantenham elevada a produtividade do processo e atinjam o elevado potencial de produção (ARCHBOLD et al., 2012). O intuito da geração de novilhas da raça Holandesa é desenvolver animais com peso apropriado para que emprenhem em torno de 14 meses de idade, e tenham seu primeiro parto aos 24 meses de idade (VAN AMBURGH et al., 1998; DONOVAN et al., 2003). Relatos de alguns pesquisadores (HOFFMAN & FUNK, 1992) evidenciaram que as novilhas que emprenham mais tardiamente apresentam maiores taxas de distocia e maior escore de condição corporal (ECC) ao primeiro parto. Da mesma forma, outros autores (ETTEMA & SANTOS, 2004) reportaram que o maior

retorno econômico de novilhas é encontrado quando seu primeiro parto acontece entre 23 e 24 meses.

No entendimento de STEVENSON et al., (2008), novilhas devem ser avaliadas por palpação retal para que sejam identificadas como pré-púberes ou púberes. Os autores observaram que novilhas pré-púberes têm desempenho reprodutivo e econômico inferiores se submetidas à programas reprodutivos para IA.

Preconiza-se que a primeira inseminação seja realizada através de protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF; SILVA et al., 2015), sendo utilizada a IA após observação de estro nos casos das novilhas não se tornarem gestantes na primeira IA, como ferramenta para diminuir a idade à primeira concepção e ao primeiro parto (FODOR et al., 2018). Além disso, recomenda-se a utilização de sêmen sexado em novilhas por apresentarem satisfatórias taxas de concepção (NORMAN et al., 2010; SÁ FILHO et al., 2010; SALES et al., 2011; COLAZO & MAPLETOFT, 2017). Pesquisas também informam que novilhas inseminadas com sêmen sexado apresentaram menores taxas de distocia e de natimortos, isso acontece por que existe maior porcentagem de fêmeas nascidas e, portanto, de menor tamanho ao parto (NORMAN et al., 2010). Os fatores que influenciam a puberdade, como a idade, peso e manejo, também devem ser levados em consideração para o período de IA (CAMPOS, & LIZIEIRE, 2007).

### 2.2.2. Primíparas em lactação

Atualmente, vacas de alta produção de leite apresentam alta fertilidade. Entretanto, Walsh et al. (2011) discutem que ainda é um desafio obter satisfatórios índices reprodutivos de vacas em lactação de elevada produção. Um dos principais fatores que afetam a eficácia reprodutiva de rebanhos leiteiros é o prolongado período de serviço e a baixa taxa de detecção de cio (taxa de serviço). Esses fatores podem ser controlados por técnicas de manejo reprodutivo. Contudo, a taxa de concepção e a taxa de perda gestacional são mais influenciadas por fatores intrínsecos aos animais e de maior dificuldade de controle (SANTOS, 2008). Pesquisas apontam que 90% dos oócitos ovulados são fertilizados (DISKIN & MORRIS, 2008). Entretanto, a confirmação da gestação ocorre em apenas 26,7 a 50,7% dos animais (TILLARD et al., 2008). Essas

informações evidenciam o comprometimento da fertilidade entre a fertilização e o estabelecimento da gestação.

O ECC, o número de partos, o estresse térmico, o intervalo entre parto e primeiro serviço, a produção de leite e as complicações no período pós-parto (metrite, distocia e retenção de anexos fetais) são fatores determinantes que afetam a taxa de concepção. Em consequência da redução na taxa de concepção, verifica-se maior número de dias em aberto, maior número de inseminações e maior custo com alimentação (KIM & JEONG, 2018). O balanço energético negativo e o consumo de matéria seca são pontos críticos importantes que influenciam também na taxa de concepção (DISKIN & MORRIS, 2008; TILLARD et al., 2008).

São diversos os desafios de uma primípara, como por exemplo a baixa imunidade devido à baixa memória aos agentes infecciosos durante sua vida. Ainda, as primíparas apresentam sobrecarga decorrente da sua primeira lactação, havendo necessidade de continuar crescendo para atingir o peso adulto e de ganhar escore de condição corporal (ECC) e peso estando lactante.

Em vacas em lactação a maior taxa de perda gestacional acontece durante o período embrionário inicial (até 24 dias de gestação), especificamente nos primeiros oito dias de gestação. Essa perda gestacional pode alcançar taxas de até 43% (DISKIN & MORRIS, 2008). Estudo do WILTBANK et al. (2016) aponta que durante a primeira semana de gestação pode ocorrer a perda da gestação em 20 a 50% das vacas em lactação. Esse elevado acontecimento pode estar atribuído às inadequadas concentrações de P4 para a secreção de histotrofo no lúmen uterino, positivamente correlacionado com a secreção de interferon-tau e o estabelecimento da gestação (LONERGAN, 2011).

Considerando o intervalo de perda embrionária tardia (do dia 27 ao dia 45) e perda fetal (do dia 45 ao término da gestação), verificam-se índices que variam entre 7 e 27% em vacas em lactação (SARTORI & DODE, 2008). Existem estudos (SANTOS et al., 2004; ABDALLA et al., 2017) que associam fatores maternos (produção de leite, ECC, dias em lactação, complicações do período pós-parto, período entre o parto e a primeira inseminação, número de partos e abortos anteriores) e não maternos (estação do ano, anomalias de posições fetais, touro, protocolos de sincronização e manejo da fazenda) com a perda gestacional. Esses fatores devem ser avaliados para que seja feita uma abordagem preventiva ou terapêutica para diminuir os problemas de perda gestacional.

### 2.3. TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES

A partir do século XX, com o conhecimento sobre a fisiologia reprodutiva da fêmea bovina, inúmeras biotécnicas da reprodução foram desenvolvidas e são atualmente utilizadas para potencializar o desempenho reprodutivo e, logo, a produtividade de leite (STEVENSON & BRITT, 2017). A IA, a criopreservação de sêmen, os protocolos de superovulação para TE, as técnicas de aspiração folicular e de produção *in vitro* de embriões, a sexagem espermática, a clonagem e a análise e edição genômica são exemplos bem sucedidos do emprego de biotécnicas reprodutivas que vêm revolucionado a indústria de produção de leite (MOORE & HASLER, 2017). A introdução de tais tecnologias objetivando características de saúde, fertilidade e produção oferecem oportunidades para o melhoramento genético de rebanhos leiteiros, com significativos impactos econômicos e sociais (FLEMING et al., 2018).

A TE em animais jovens (novilhas) aumenta o ganho genético das futuras gerações, encurtando este intervalo de gerações, juntamente com genética comprovada de origem paterna e do comprovado mérito genético superior das mães. Dessa forma acelera-se o ganho genético e reduz a idade de seleção dos animais, diminuindo o período para ganho genético entre gerações em programas reprodutivos (GRANLEESE et al., 2017).

Apesar da IA ser a biotecnologia mais utilizada, em relação a ganho genético a TE, apresenta vantagens quando comparada com a IA, conforme publicado por BARUSELLI et al., (2018). Ainda, tem o potencial de aumentar a fertilidade de vacas em lactação que passam por estresse por calor e de fêmeas diagnosticadas como repetidoras de serviço. O estresse por calor pode ocasionar diminuição no consumo alimentar e aumentar o balanço energético negativo, induzir mudanças na dinâmica folicular ovariana e morte embrionária (BARUSELLI et al., 2020). O desempenho reprodutivo de vacas em lactação é comprometido pelo estresse calórico por acarretar redução na qualidade oocitária, o que pode ser contornado pelo uso da TE (FERREIRA et al., 2011). Ainda, estudos foram indicativos de que a TE pode ser utilizada para minimizar a baixa fertilidade e a morte embrionária inicial de fêmeas repetidoras de serviço, promovendo maiores taxas de prenhez (RODRIGUES et al., 2010; BARUSELLI et al., 2011).

A TE tem o potencial de evitar danos causados pela hipertermia nos oócitos e embriões em fases iniciais de desenvolvimento, sobretudo nos primeiros 7 dias depois do

estros (PUTNEY et al., 1989). Além disso, pode manter elevadas taxas de prenhez durante o ano pela produção de embriões durante meses mais frios que serão transferidos posteriormente em períodos de estresse térmico. Existem estudos que evidenciam que a produção de embriões de doadoras superovuladas também é comprometida nas estações mais quentes do ano (METZGER & CHEBEL, 2008; VIEIRA et al., 2014a; BARUSELLI et al., 2020). Dessa forma, maiores taxas de prenhez durante o verão são verificadas em fêmeas que recebem TE quando comparadas com fêmeas que recebem IA (BARUSELLI et al., 2010).

Os autores Baruselli et al. (2020) informam que em períodos de estresse térmico é possível aumentar a taxa de prenhez em oito pontos percentuais utilizando a TE ao invés da IA, o que aumentou a rentabilidade por vaca por ano assim como o valor genético alcançado com sua progênie. Os autores acrescentam que é possível fazer uso de embriões criopreservados de doadoras novilhas ou vacas que não estão em lactação (secas), bem como seleção genética de doadoras para capacidade de termorregulação como estratégias para a produção de embriões nos meses mais quentes do ano.

Estudo foi realizado para verificar as vantagens da TE em relação à IA na eficácia reprodutiva em vacas sob estresse térmico ou diagnosticadas como repetidoras de serviço (BARUSELLI et al., 2018). Utilizando dados de estudos previamente realizados, verificou-se que as taxas de concepção e de prenhez foram maiores quando a TE foi realizada, quando comparada à IA. Ainda, a possibilidade de gerar embriões a partir de sêmen sexado aumentou as vantagens do uso da TE (SOARES et al., 2011). O uso de sêmen sexado é interessante na pecuária leiteira por aumentar o número de novilhas de reposição e, conseqüentemente, a pressão de seleção e o ganho genético (SÁ FILHO et al., 2013). Outros estudos confirmaram que a TE-*in vitro* aumenta a proporção de vacas em lactação prenhes e de fêmeas nascidas no verão quando comparadas com o uso da IA (STEWART et al., 2011).

Além disso, verifica-se que a TE-*in vitro* aumenta a proporção de vacas em lactação prenhes, mesmo que as taxas de embriões transferidos à fresco sejam superiores do que as de embriões transferidos após congelamento convencional ou vitrificação (STEWART et al., 2011). É demonstrado que embriões criopreservados (vitrificados ou congelados) apresentam menores taxas de prenhez do que embriões transferidos à fresco (FLEURY et al., 2014; HASLER, 2014), indicando relevante necessidade de melhorias na criopreservação de embriões para atender à procura cada vez maior por embriões

criopreservados. Vale evidenciar que, para potencializar o manejo reprodutivo das fazendas, é necessário aprimorar a técnica de congelamento lento como uma alternativa promissora.

No entanto, quando embriões são produzidos em meios de cultivo que aumentem sua sobrevivência e desenvolvimento após a criopreservação, não é visto diminuição na fertilidade de vacas em lactação quando embriões criopreservados transferidos em comparação com a IA (BLOCK et al., 2010). Adicionalmente, uma pesquisa recente demonstrou que a vitrificação de blastocistos produzidos *in vitro* é um atraente modo de criopreservação embrionária, ao resultar em similares taxas de prenhez quando comparados a embriões transferidos à fresco (DO et al., 2018). Esses estudos vêm reafirmando o fato de que a vitrificação pode ser uma alternativa promissora ao método de congelamento lento de embriões produzidos *in vitro* (CAAMAÑO et al., 2015).

### 2.3.1. Números da produção de embriões *in vitro*

Os autores Viana et al. (2017) informam que a produção de embriões vem crescendo no Brasil nos últimos quinze anos, caracterizada pela diminuição na produção de embriões *in vivo* e crescente aumento na produção de embriões *in vitro*, que representa na atualidade 97% dos embriões produzidos pela indústria leiteira. No entanto, os autores afirmam que apesar das raças *Bos taurus* representarem mais de 50% da produção brasileira de embriões e do Brasil ser o um dos maiores produtores de embriões *in vitro*, o uso dessa biotécnica é utilizada em menos de 1% das vacas e novilhas em idade reprodutiva, colocando o Brasil na 11ª posição pelo índice de intensidade de uso da TE nos rebanhos.

O referido aumento de embriões produzidos *in vitro* nas raças leiteiras deve-se principalmente à facilidade de implementação da técnica e à eficiência dos protocolos de TETF desenvolvidos. Além disso, verifica-se a manutenção de características produtivas desejáveis através de cruzamentos entre raças e à possibilidade de uso de sêmen-sexado (SARTORI et al., 2016b).

Entretanto, um dos maiores gargalos PIVE está na acessibilidade dos oócitos provenientes de doadoras nas fazendas até os laboratórios de produção de embriões (MARINHO et al., 2012). Na tentativa de solucionar esse entrave, sistemas portáteis de

transporte de oócios e embriões foram desenvolvidos com benefícios diretos para a indústria da PIVE (CAVALCANTI et al., 2018).

Visando uma melhor seleção de embriões e uma monitoração em tempo real do metabolismo aeróbico e anaeróbico de embriões produzidos *in vitro*, sensores do fluxo metabólico de oxigênio, glicose e lactato de embriões foram desenvolvidos (OBEIDAT et al., 2019). Esses estudos colaboram para melhorar as condições de desenvolvimento inicial dos embriões visando melhorar a qualidade.

### 2.3.2. Programação fetal: alterações epigenéticas na funcionalidade da placenta

O termo epigenética foi criado há aproximadamente 70 anos na tentativa de explicar os múltiplos fenótipos celulares oriundos de um mesmo genótipo (WIGHTMAN, 1956). O conceito clássico define epigenética como mudanças químicas na cromatina que não envolvem mudanças na sequência de nucleotídeos do DNA, mas alteram a função. Entretanto, na atualidade o termo epigenética tomou proporções maiores e compreende diversos mecanismos que participam da regulação de expressão gênica, tais como metilação de DNA, modificações pós-traducionais em histonas, RNAs não codificantes, *imprinting* genômico, entre outros (BACCARELLI & BOLLATI, 2009; CHEN et al., 2016). Mecanismos epigenéticos podem alterar processos genéticos, e podem ser alterados por fatores externos (SKINNER, 2015). Sendo assim, os processos epigenéticos são potencialmente reversíveis, diferente de alterações genéticas, e são conseqüentemente passíveis de tratamento (HAMM & COSTA, 2015).

Existem efeitos epigenéticos baseados em funções do gene que, quando alteradas, modificam o perfil de expressão genética dos animais (URREGO et al., 2014). A metilação do DNA, caracterizada pela adição de radical metil sempre precedido de citosina e guanina, influenciam a expressão de genes e de fenótipos sem alterações na sequência do DNA, com efeitos na produção de leite, reprodução e saúde (FLEMING et al., 2018). Estudos sobre a epigenética em gado de leite podem auxiliar no desenvolvimento de novas biotécnicas e práticas de manejo que melhorem a qualidade de vida e produção dos animais (FLEMING et al., 2018), visto que variações fenotípicas não explicadas podem ser atribuídas aos efeitos epigenéticos (SINGH et al., 2010).

Embriões bovinos produzidos *in vitro* apresentaram comprometimento na estabilidade genômica de blastômeros e maior frequência de aberrações cromossômicas, quando comparados com embriões produzidos *in vivo* (TŠUIKO et al., 2017). Ainda, gametas e embriões que são expostos a estresse durante as etapas de produção de embriões *in vitro* apresentam menor capacidade de desenvolvimento. A alteração no perfil fisiológico dos gametas e dos embriões pode, ao menos parcialmente, explicar esses efeitos negativos da TE-*in vitro* (URREGO et al., 2014).

Durante a gestação, a metilação do DNA pode alterar a expressão de genes e influenciar eventos que acontecem na prenhez inicial, visto que a regulação coordenada dessa expressão é essencial para o adequado estabelecimento da gestação (WALKER et al., 2013). Modificações no ambiente materno podem resultar em alterações no crescimento e funcionalidade da placenta das receptoras e podem aumentar a incidência de perda gestacional, de morbidade e de mortalidade perinatais, da síndrome do feto anormal ou feto gigante e levar à maiores taxas de distocias e retenções de placenta (NUMABE et al., 2000; FARIN et al., 2006; DESHMUKH et al., 2012; BONILLA et al., 2014; SIQUEIRA et al., 2017).

Estudos relataram que efeitos epigenéticos ligados à expressão gênica alteram indicadores de saúde, com efeitos no sistema imune inato (importante no reconhecimento e na resposta inicial à patógenos) (DOHERTY et al., 2013; GREEN & KERR, 2014) e no sistema adaptativo (PAIBOMESAI et al., 2013), podendo explicar, em parte, a sobrevivência de bezerras nascidas a partir da FIV.

Com relação ao desempenho futuro das bezerras, não foi relatado efeito na idade à primeira concepção, na taxa de prenhez à primeira concepção e na produção e composição de leite da primeira lactação de fêmeas provenientes de IA ou TE-*in vitro* (BONILLA et al., 2014). Entretanto, Siqueira et al. (2017) observou que animais provenientes de FIV produzida com sêmen sexado produziram menores quantidades de leite, gordura e proteína na primeira lactação em comparação com animais provenientes de IA. Essas diferenças podem ser explicadas pelo fato de que a produção de leite pode ser influenciada por uma resposta epigenética das células mamárias epiteliais à estímulos ambientais e de manejo externos (SINGH et al., 2010).

Visando melhorar os efeitos negativos da FIV, sistemas de cultura de embriões produzidos *in vitro* vêm sendo desenvolvidos e aprimorados a partir de novos conhecimentos com relação ao funcionamento molecular e metabólico dos embriões. A

suplementação dos meios de cultivo com substâncias antioxidantes pode proteger embriões do estresse oxidativo, auxiliando em sua resposta adaptativa a condições estressantes durante o cultivo (DOS SANTOS et al., 2019). Além disso, a adição de moléculas secretadas pelas fêmeas gestantes para regular o desenvolvimento embrionário nos meios de cultura de embriões produzidos *in vitro* reduziram o peso ao nascimento dos bezerros (TRÍBULO et al., 2017). Esses resultados são indicativos de que os sistemas de produção de embriões estão sendo aprimorados para programação de fenótipo mais adequado na tentativa de reduzir os efeitos epigenéticos na criação dos animais.

### 3. HIPÓTESES

#### 3.1. DESEMPENHO REPRODUTIVO DAS RECEPTORAS (VACA HOLANDESA EM LACTAÇÃO OU MESTIÇA DO CORTE) SUBMETIDAS À TE-*IN VITRO*

Conforma demonstra a Figura 1, a receptora mestiça do corte (corte) apresenta maior taxa de gestação aos 60 dias, menor taxa de aborto/natimorto e maior taxa de nascimento do que a receptora Holandesa em lactação (leite), devido ao menor estresse térmico, nutricional e metabólico. Já para a variável duração da gestação, acredita-se que seja maior nas receptoras de leite.

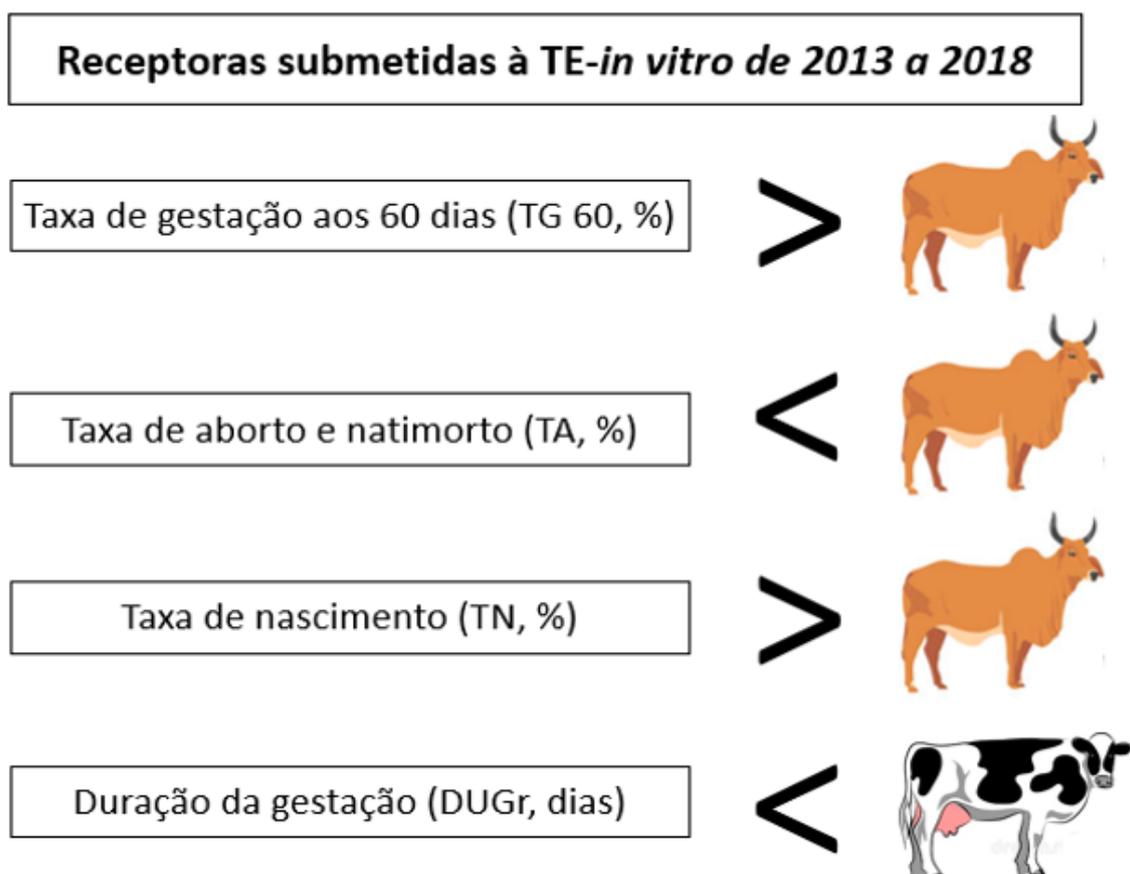


Figura 1: Modelo descritivo da hipótese das receptoras (corte ou leite) submetidas a TE-*in vitro*.

### 3.2. DESEMPENHO REPRODUTIVO E PRODUTIVO DA PROGÊNIE (FÊMEA HOLANDESA) PRODUZIDA POR TE-*IN VITRO*

Conforme demonstrado na Figura 2, os animais provenientes de receptoras Holandesas apresentam alteração no desempenho reprodutivo e produtivo quando comparados com os animais provenientes de receptoras mestiças de corte. As receptoras em lactação apresentaram maior estresse térmico, nutricional e metabólico decorrente a elevada produção de leite e a adaptação da raça às condições tropicais, podendo alterar o ambiente uterino e comprometer o desenvolvimento embrionário e fetal devido aos efeitos epigenéticos;

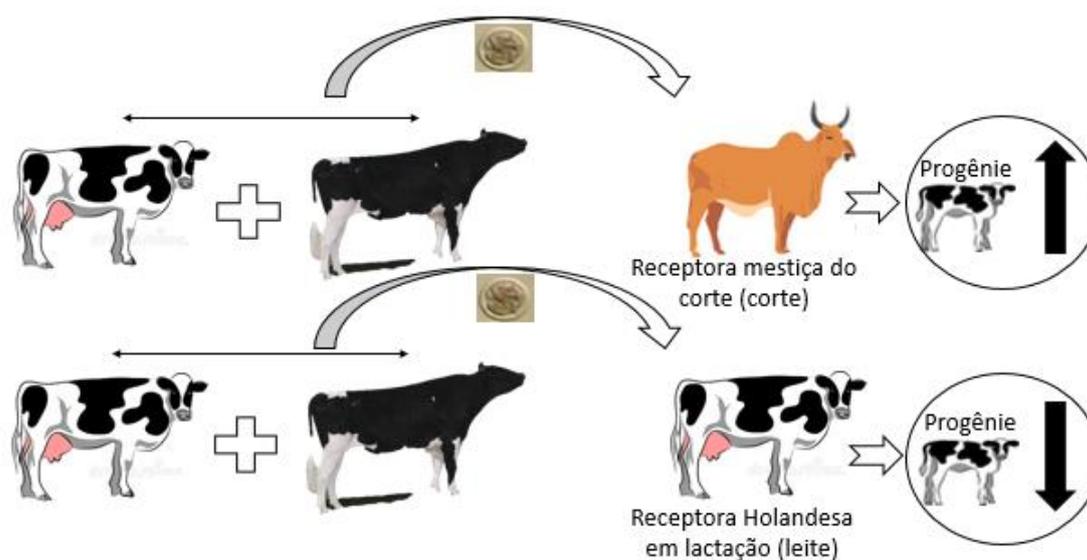


Figura 2: Modelo descritivo da hipótese dos possíveis efeitos no desempenho reprodutivo e produtivo na progênie (filha de receptora do corte ou do leite) geradas pela TE-in vitro.

#### 4. OBJETIVOS

Para testar as hipóteses levantadas, o presente estudo avaliou o efeito da receptora, vaca Holandesa em lactação ou vaca mestiça do corte, sobre o desempenho produtivo e reprodutivo das progênes geradas por TE-*in vitro*. Foram analisados dados retrospectivos da Fazenda Agrindus S.A. nos anos de 2013 a 2018.

## 5. MATERIAIS E MÉTODOS

### 5.1. FAZENDA E ANIMAIS

O presente estudo avaliou dados reprodutivos de receptoras da raça Holandesa em lactação (*Bos taurus*; n=490) e receptoras mestiças do corte não lactantes com predominância para as raças zebuínas (*Bos indicus*; n=475), ambas receberam um embrião *in vitro* de doadoras Holandesas produzido com sêmen sexado de touros Holandeses, totalizando n=965 animais aferidos durante os anos de 2013 a 2018 na Fazenda Santa Rita/Agrindus S.A., localizada no município de Descalvado, São Paulo, Brasil. Ainda, foi realizada a avaliação de dados reprodutivos e produtivos da progênie (fêmeas Holandesas) provenientes de receptoras Holandesas e da progênie provenientes de receptoras mestiças do corte.

A Fazenda Agrindus tem o maior rebanho holandês registrado no Brasil, sendo classificadas em P.O. na Associação Brasileira da Raça Holandesa. As vacas são ordenhadas três vezes ao dia e a produção média é de 33 L/vaca/dia, totalizando uma produção total de 58 mil L/dia com 1.900 vacas em lactação.

As vacas em lactação são mantidas em sistema *free-stall* e recebem dieta completa para atingir ou exceder os requerimentos nutricionais mínimos da categoria (NRC, 2001), com livre acesso à água, com camas de areia individuais, aspersores na linha de cocho e ventiladores para diminuir o estresse térmico. Já as receptoras mestiças do corte encontram-se à pasto com suplementação proteica e água *ad libitum*. A fazenda é autossuficiente no oferecimento de alimentos volumosos, assim como na rastreabilidade dos animais e do processamento do leite.

O armazenamento de dados é realizado por meio de planilhas (Excel®, Microsoft Office), em que foram coletados os dados reprodutivos do estudo, e de um programa de processamento de dados (Ideagri®, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil), em que foram coletados os dados produtivos do estudo.

## 5.2. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Foram avaliadas as variáveis nas receptoras: taxa de gestação dos 60 dias (% de vacas gestantes aos 60 dias/vacas que receberam embrião; TG 60), taxa de aborto e natimorto (% de vacas que abortaram ou não produziram uma bezerra viável ao parto/vacas gestantes no diagnóstico de 60 dias; TA), taxa de nascimento (% de partos viáveis ocorridos/vacas gestantes no diagnóstico de 60 dias; TN) e a duração da gestação das receptoras (DUGr) de leite e do corte, que receberam TE-*in vitro* nos anos de 2013 a 2018, conforme a Figura 3 a seguir:



Figura 3: Delineamento experimental das variáveis analisadas nas receptoras Holandesas em lactação (leite) e receptoras mestiças do corte (corte) submetidas a TE-*in vitro* nos anos de 2013 a 2018.

Na progênie filhas de receptoras de leite ou filhas de receptoras do corte, avaliou-se nos anos de 2013 a 2018, as seguintes variáveis: informação genética para produção de leite (IG, litros – *Clarifide* Holandês®), peso ao nascimento (PN, kg) e peso ao desmame (PD, kg). Avaliou-se também os dados reprodutivos da primeira gestação, como a idade à concepção (IP-CON, dias), duração da gestação (DUG, dias), taxa de aborto e natimorto (AB, %), taxa de auxílio no parto (AUX-PAR, %) e idade no parto (IP-PAR, dias). Assim como os dados produtivos da primeira lactação, como a produção de leite ajustada em 305

dias (PL305, litros), pico de produção de leite (PICO-LACT, litros) e a duração da lactação (DUR-LAC, dias). Todos os índices avaliados por categoria animal (filhas de receptoras de leite ou de corte) e por ano (2013 a 2018) estão indicados na Figura 4.

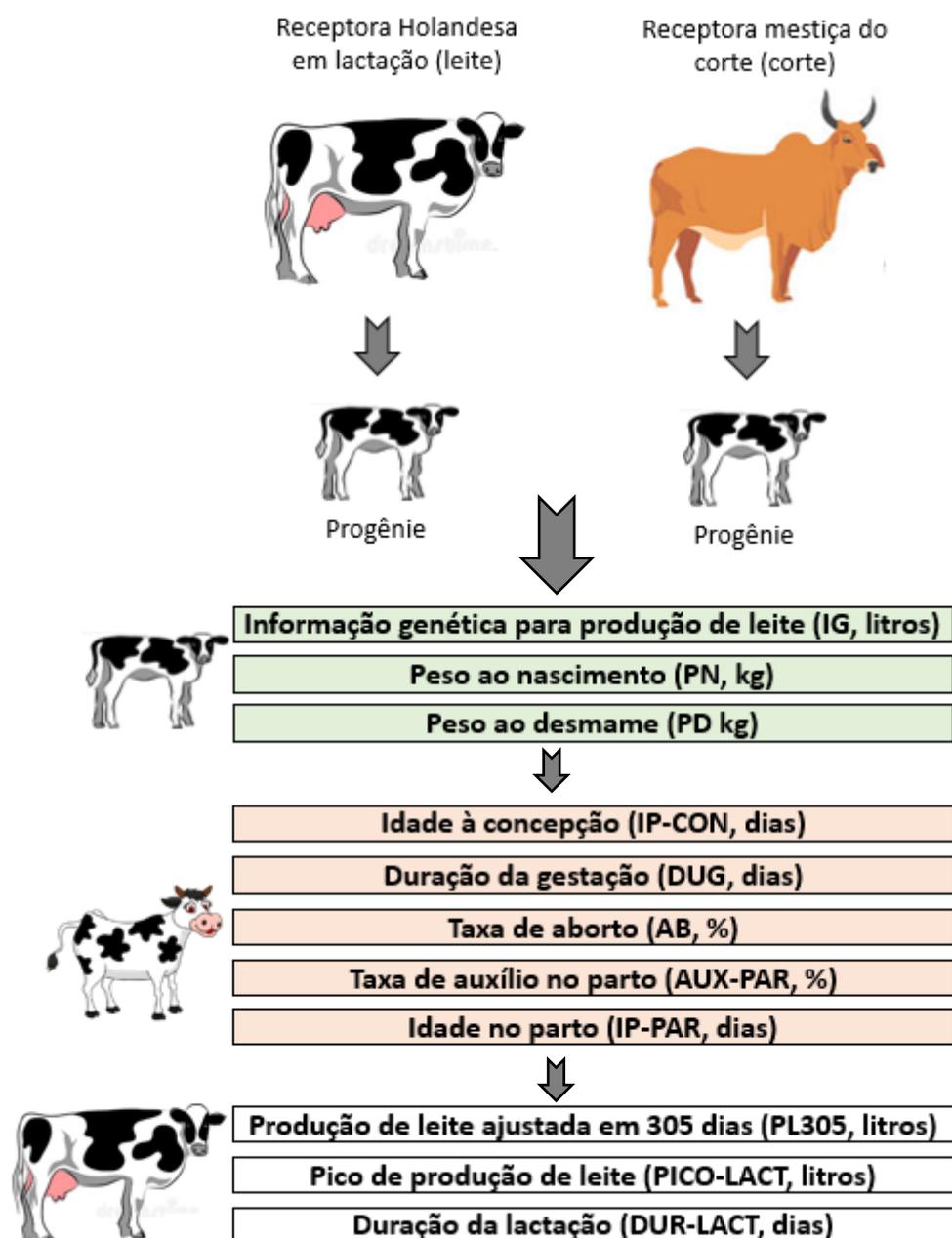


Figura 4: Delineamento experimental das variáveis analisadas nas progênies filhas de receptoras Holandesas em lactação (leite) ou filhas de receptoras mestiças do corte (corte) nos anos de 2013 a 2018.

### 5.3. MANEJO REPRODUTIVO DAS DOADORAS E RECEPTORAS DE EMBRIÃO

#### 5.3.1. Doadoras de oócitos (TE-*in vitro*)

As vacas doadoras de oócitos foram selecionadas pela predição do seu mérito genético por meio de um programa terceirizado de avaliação genética (Clarifide®, Zoetis, Brasil) e também por conformação e produção de leite, e podem estar em lactação ou no período seco. Na TE-*in vitro* não foram realizados protocolos de superovulação e as vacas passaram pelo procedimento de aspiração folicular guiada por ultrassonografia (OPU – *ovum pick-up*) em dias aleatórios do ciclo estral.

#### 5.3.2. Aspiração folicular (OPU) e produção de embriões *in vitro*

O procedimento de OPU foi realizado por um Médico Veterinário de uma empresa especializada (Fininvitro®, Bauru, São Paulo, Brasil). Para a realização do procedimento, as vacas receberam anestesia epidural com 2% de cloridrato de lidocaína (Lidovet®, Bravet, Brasil) e o períneo foi higienizado com água e álcool em concentração de 70%. Foi utilizado um ultrassom com transdutor convexo de 5 MHz e foi acoplado a ele uma agulha de aspiração conectada em um sistema de vácuo (Watanabe Tecnologia Aplicada – Cravinhos, São Paulo, Brasil), mantido à pressão de 100mmHg e a agulha usada contém diâmetro de 18-gauge x 2-inch (0,9 x 50mm; Terumo Europe NV – Bélgica). Os folículos aspirados permaneceram em um tubo contendo 15 mL de solução Dulbecco PBS (DPBS; Nutricell Nutrientes Celulares – Campinas, São Paulo, Brasil) contendo 1% de soro fetal bovino (SFB; Gibco Life Technologies – Grand Island, Nova York, Estados Unidos da América) e 5000 UI/mL de heparina (Parinex, Hipolabor – Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil) à 35-37°C.

No laboratório de campo, outro Médico Veterinário da mesma empresa foi responsável pelo procedimento de seleção de oócitos. Os oócitos foram recuperados com o uso de um filtro de 75µm (Watanabe Tecnologia Aplicada) e DPBS com 1% de SFB. Os oócitos foram lavados em solução DPBS com 1% de SFB à 37°C e avaliados em esteriomicroscópio em aumento de oito a vinte vezes. Os oócitos foram classificados em

graus de acordo com o número de camadas de células do complexo cúmulos oócitos (1 = contendo mais de três camadas compactadas, 2 = contendo pelo menos uma camada, 3 = desnudos e 4 = atrésicos, com sinais de degeneração e descartados). Os oócitos de graus 1 a 3 foram mantidos em meio de maturação *in vitro* (MIV) e transportados para um laboratório de produção *in vitro* de embriões (Bioembryo Biotecnologia da Reprodução Animal – Bauru, São Paulo, Brasil – até 2015 e Repron – Lins, São Paulo, Brasil – a partir de 2016).

O meio de MIV foi composto de tampão de bicarbonato TCM-199 (Gibco Life Technologies) suplementado com 10% de SFB, 50 µg/mL de estradiol (17β Estradiol; Sigma-Aldrich Chemical Co.), 22 µg/mL de piruvato de sódio e 50 µg/mL de gentamicina. Os oócitos recuperados de cada vaca foram cultivados por 24 horas em 100 µL de meio de MIV sob óleo mineral (D'Altomare – São Paulo, São Paulo, Brasil) à 39°C em atmosfera com 5% de CO<sub>2</sub> com ar umidificado. Após as 24 horas, os oócitos foram lavados e mantidos em 100 µL de meio de FIV contendo solução de Tyrode com piruvato-lactato-albumina suplementado com 10 µg/mL de heparina, 22 µg/mL de piruvato de sódio, 50 µg/mL de gentamicina e 6 mg/mL de solução BSA livre de ácidos graxos e solução PHE (2µM de penicilina, 1µM de hipotaurina e 0,25µM de epinefrina). Para o procedimento de FIV, as palhetas de sêmen são descongeladas por 30 segundos em temperatura de 35°C e o sêmen foi depositado em gradiente Percoll em concentração de 90 a 45% preparado com meio de lavagem de sêmen (meio de Tyrode modificado) e centrifugado à 320 x g por 30 minutos para separar o plasma seminal dos espermatozoides móveis. Cada gota de fertilização recebeu 5 µL de espermatozoides e as gotas com oócitos e espermatozoides foram incubadas por 18 a 20 horas à 38,5°C em atmosfera com 5% de CO<sub>2</sub> com ar umidificado. Preconizou-se o uso de sêmen sexado na produção de embriões *in vitro*.

Após aproximadamente 18 horas os zigotos foram retirados das células do cúmulus oócitos por pipetagem mecânica no meio de Tyrode e foram cocultivados em uma monocamada de células do cumulus que permaneceu aderida na superfície da placa durante a MIV. O meio de MIV foi substituído com meio de CR2aa suplementado com 2% de SFB e 30 mg/mL de BSA para cultivo de embriões *in vitro* (CIV) em 100 µL de meio de CIV à 39°C em atmosfera com 5% de CO<sub>2</sub> com ar umidificado por 48 a 72 horas. Durante o primeiro (dia 3 de cultivo) e segundo (dia 5 de cultivo) *feeding*, 50 µL foram substituídos por novo meio. A taxa de clivagem foi avaliada após 3 dias de CIV (número

de zigotos clivados pelo número de oócitos cultivados) e a taxa de blastocisto após 7 dias de CIV (número de blastocistos pelo número de oócitos cultivados). Os procedimentos foram descritos de acordo com Vieira et al. (2016).

### 5.3.3. Receptoras de embrião (TE-*in vitro*)

As vacas receptoras de embrião podem ser selecionadas de duas formas: para TE após observação de estro ou para TETF, demonstrado na Figura 5 a seguir:

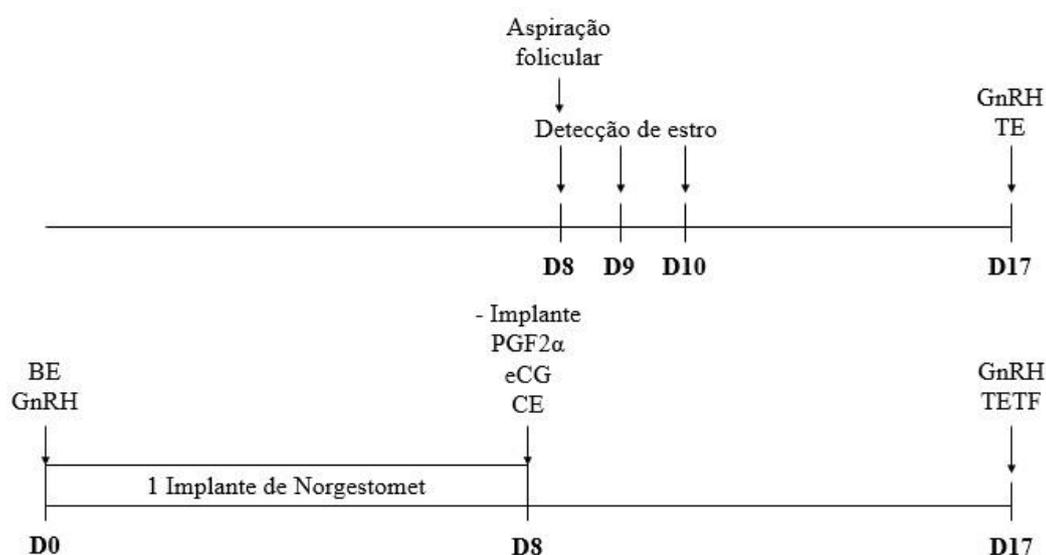


Figura 5: Protocolos de transferência de embrião (TE) após observação de estro ou de transferência de embrião em tempo fixo (TETF) em vacas Holandesas em lactação, para embriões produzidos *in vitro*. BE: benzoato de estradiol; GnRH: hormona libertadora de gonadotrofina; Implante: implante de progesterona auricular; PGF2: prostaglandina; eCG: Gonadotrofina coriônica equina; CE: cipionato de estradiol.

Para a TE, as vacas são avaliadas de 6 a 8 dias após serem observadas em estro, e para a TETF é realizado protocolo que consiste em: no D0 as vacas recebem um implante auricular de norgestomet (Crestar®, MSD Saúde Animal, Brasil) e 2 mg de BE (Fertilcare Benzoato Sincronização®, MSD Saúde Animal, Brasil); no D8 o implante é removido e as vacas recebem 400 UI de eCG (Folligon®, MSD Saúde Animal, Brasil), 0,53 mg de PGF2α (Ciosin®, MSD Saúde Animal, Brasil) e 1 mg de CE (Fertilcare Ovulação®, MSD Saúde Animal, Brasil); no D17 é realizada a TETF com a aplicação de GnRH (Fertagyl®, MSD Saúde Animal, Brasil), conforme a Figura 5 acima.

No dia da transferência de embriões (7, 8 ou 9 dias após a detecção do estro ou no D17 após o protocolo de TETF), as receptoras são avaliadas por palpação retal quanto à

presença de CL, e apenas as receptoras que apresentam pelo menos um CL receberam um embrião sexado cultivado *in vitro*.

#### 5.3.4. Transferência de embriões produzidos *in vitro*

Foram utilizados na TE-*in vitro* embriões transferidos à fresco. No momento da TE, as receptoras receberam anestesia epidural com 2% de cloridrato de lidocaína (Lidovet®, Bravet, Brasil), 0,1 mg de GnRH (Gonadorelina; Fertagyl®, MSD, Brasil) e os embriões foram transferidos pelo método não cirúrgico de inovulação embrionária no corno uterino ipsilateral ao CL presente avaliado (no caso de CL em ambos os ovários, no corno uterino com o ovário em que o CL foi melhor avaliado).

### 5.4. DIAGNÓSTICO DE GESTAÇÃO

O diagnóstico de gestação foi realizado pelo mesmo Médico Veterinário aos 60 dias de gestação por ultrassonografia transretal (Aloka SSD 500 com transdutor linear 5 MHz, Japão), em que é considerada gestante a vaca com a presença de vesícula embrionária e embrião com batimentos cardíacos nas receptoras holandesas em lactação e nas receptoras mestiças do corte.

### 5.5. MANEJO DA PROGÊNIE

As fêmeas gestantes holandesas em lactação, em período próximo ao estimado para a parição, são encaminhadas ao setor da maternidade, onde são observadas desde os primeiros sinais de parição, para que os partos sejam sempre acompanhados. A fazenda faz uso de uma ficha de parição, em que são anotadas informações sobre o parto tais como: local onde foi realizado, horário de início e término, facilidade ao parto (FP; natimorto, induzido, normal e auxiliado) e se a vaca apresentou retenção de anexos fetais (RAF; sim ou não). Ainda, é feita uma análise do colostro em quantidade e qualidade, com o uso de bolas de colostrômetro (MS Colostro balls®, Suprivet, Brasil).

As fêmeas gestantes mestiças do corte, em período próximo ao estimado para a parição, são encaminhadas ao piquete maternidade, próximo ao pasto onde se encontrava. A Fazenda não realiza o sistema de anotações para estes animais, como descrito anteriormente com as holandesas em lactação. Por conta disso, não conseguimos realizar as análises de tipo de parto, retenção de anexos fetais e aborto paras as receptoras.

Após o nascimento, os recém nascidos das receptoras holandesas em lactação já se encontram no setor maternidade e os recém nascidos das receptoras mestiças do corte são levados diariamente para este setor após o seu nascimento. Estes animais receberam o fornecimento de colostro congelado de outras receptoras holandesas em lactação ao invés de sua progenitora mestiça do corte. O colostro congelado foi avaliado sobre sua qualidade e quantidade fornecida, assim como o colostro fresco. Sendo assim, todos os recém nascidos, seja de uma receptora holandesa em lactação ou mestiça do corte são submetidos à semelhantes sistemas de manejos no setor da maternidade, de cria e de recria até atingirem a puberdade e serem inseminados, parirem e produzirem leite.

Na progênie, também são anotadas as informações sobre peso ao nascimento, quantidade e qualidade de colostro ingerido, e horário de fornecimento do colostro. Preconiza-se que todas as fêmeas recebam ao menos quatro litros de colostro de ótima a excelente qualidade nas primeiras seis horas de vida. As fêmeas são criadas em instalações individuais elevadas do chão, forradas de feno, e permanecem na mesma instalação por cerca de 85 dias. Posteriormente, as bezerras passam a ser criadas em grupos de animais e recebem água e alimento concentrado *ad libitum*, sendo destinadas ao setor de criação de novilhas com cerca de 10 meses, onde permanecem até o período de pré-parto.

## 5.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A base de dados empregada neste estudo foi estruturada com informações retrospectivas de 9.829 vacas que receberam TE-*in vitro* nos anos de 2013 a 2018, e de 965 bezerras da raça Holandesa provenientes da TE-*in vitro*, com nascimentos registrados entre os anos de 2013 e 2018. A base de dados final continha 24 variáveis e aproximadamente 33.810 informações. Todas as análises foram realizadas utilizando o

software *Statistical Analysis System* (SAS, *Version 9.4 for Windows*; SAS Inst., Cary, NC) adotando o pacote *Enterprise Guide* (v 8.3).

Análise de variáveis contínuas como duração da gestação da receptora, informação genética para produção de leite, peso ao nascimento, peso ao desmame, idade à concepção, duração da gestação e idade no parto, foram realizadas por regressão multivariada utilizando o procedimento *Glimmix*. As suposições de distribuição normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias foram verificadas por meio de histogramas, gráfico de resíduos estudentizados, teste de *Shapiro-Wilk* e *Levene*. Dados foram examinados em busca de *outliers* e valores ausentes usando estatísticas de descritiva e gráficos *box-plot*. Valores discrepante de  $\pm 2DP$  (desvios padrão) acima ou abaixo da média foram considerados *outliers* e removidos. Estatísticas descritivas foram realizadas usando o procedimento *Means*. Todos os valores foram expressos em Média $\pm$ EPM (erro padrão da média) ou porcentagem (%).

No modelo inicial foram analisados os efeitos das variáveis classificatórias como a raça da receptora [Holandesa em lactação (leite) ou mestiça de corte (corte)] e o ano da concepção da receptora (2013, 2014, 2015, 2016, 2017 e 2018), assim como as interações receptora\*ano. A bezerra (de acordo com o grupo das receptoras) foi utilizada como unidade experimental. A informação genética para produção de leite da bezerra foi incluída como co-variável nos modelos referentes a sua própria performance produtiva da primeira lactação (duração da lactação, pico de produção de leite e produção de leite ajustada em 305 dias). O modelo estatístico final incluiu a raça da receptora, o ano da concepção da receptora e a interação receptora\*ano. Para determinar as diferenças entre as médias foi utilizado o teste *post hoc* de *Tukey*. A significância estatística foi considerada ao nível de 5% de probabilidade ( $P \leq 0,05$ ).

Análise de variáveis binárias como risco de auxílio de parto e incidência de aborto foram realizadas por regressão logística multivariada utilizando o procedimento *Glimmix* ajustando para distribuição Binária função *Logit*. O modelo estatístico final incluiu a raça da receptora, o ano da concepção da receptora e interação receptora\*ano. A bezerra (de acordo com o grupo da receptora) foi utilizada como unidade experimental. *Odds Ratio* ajustada (OR) e o intervalo de confiança de 95% (IC) foram devidamente calculados. Estatísticas descritivas foram realizadas utilizando o procedimento *Freq*. Os valores foram expressos em porcentagem (%).

Variáveis de performance reprodutiva como risco de prenhez aos 60 dias, risco de abortos/natimortos e de nascimentos foram realizadas por modelos lineares generalizados utilizando o procedimento *Genmod* ajustando para distribuição Binomial função *Logit*. O teste *chi-quadrado* foi utilizado para avaliar a associação entre as variáveis binárias dos dois grupos. Estatísticas descritivas foram realizadas utilizando o procedimento *Freq*. Os valores foram expressos em porcentagem (%). A significância estatística foi considerada ao nível de 5% de probabilidade ( $P \leq 0,05$ ).

## 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1. DESEMPENHO REPRODUTIVO DAS PROGENITORAS

De acordo com os índices reprodutivos a seguir (Tabela 1), foi possível analisar para cada categoria de receptora (leite e corte) as taxas anuais de fertilidade [taxa de gestação aos 60 dias (TG 60), taxa de aborto e natimorto entre 60 dias e o nascimento (TA) e taxa de nascimento (TN)] nos anos de 2013 a 2018.

Tabela 1: Taxa de gestação aos 60 dias (TG 60), taxa de aborto e natimorto (TA) e taxa de nascimento (TN) de receptoras de leite (n=3.754) e de receptoras de corte (n=6.075) submetidas à TE-in vitro nos anos de 2013 a 2018.

		<b>TG 60 (%)</b>	<b>TA (%)</b>	<b>TN (%)</b>
<b>2013</b>	<i>Corte</i>	30,4 (336/1104)	24,1 (81/336)	75,9 (255/336)
	<i>Leite</i>	21,8 (111/509)	20,7 (23/111)	72,1 (80/111)
<b>2014</b>	<i>Corte</i>	29,9 (300/1002)	18,0 (54/300)	82,0 (246/300)
	<i>Leite</i>	18,6 (102/548)	32,3 (33/102)	62,7 (64/102)
<b>2015</b>	<i>Corte</i>	27,5 (272/988)	14,7 (40/272)	85,3 (232/272)
	<i>Leite</i>	18,3 (82/446)	21,9 (18/82)	72,0 (59/82)
<b>2016</b>	<i>Corte</i>	34,4 (371/1077)	20,5 (76/371)	79,5 (295/371)
	<i>Leite</i>	45,4 (15/33)	26,6 (4/15)	66,7 (10/15)
<b>2017</b>	<i>Corte</i>	36,2 (371/1026)	12,7 (47/371)	87,3 (324/371)
	<i>Leite</i>	33,6 (173/515)	32,4 (56/173)	60,1 (104/173)
<b>2018</b>	<i>Corte</i>	40,2 (353/878)	11,6 (41/353)	88,4 (312/353)
	<i>Leite</i>	28,4 (483/1703)	23,6 (114/483)	71,2 (344/483)
<b>Valor de P</b>	Receptora	<0.0001	0,0592	<b>&lt;0.0001</b>
	Ano	<0.0001	0,0107	<b>&lt;0.0001</b>
	Receptora*Ano	<b>0,0034</b>	<b>0,0002</b>	0,0832

### 6.1.1. Taxa de gestação aos 60 dias

Para a TG 60 foi verificada interação receptora\*ano ( $P=0,0034$ ). Nos anos 2013, 2014, 2015, 2017 e 2018 a TG 60 foi maior para as receptoras do corte. Entretanto, no ano de 2016 a TG 60 foi maior para as receptoras de leite. Os dados estão ilustrados na Tabela 1 e Figura 6.

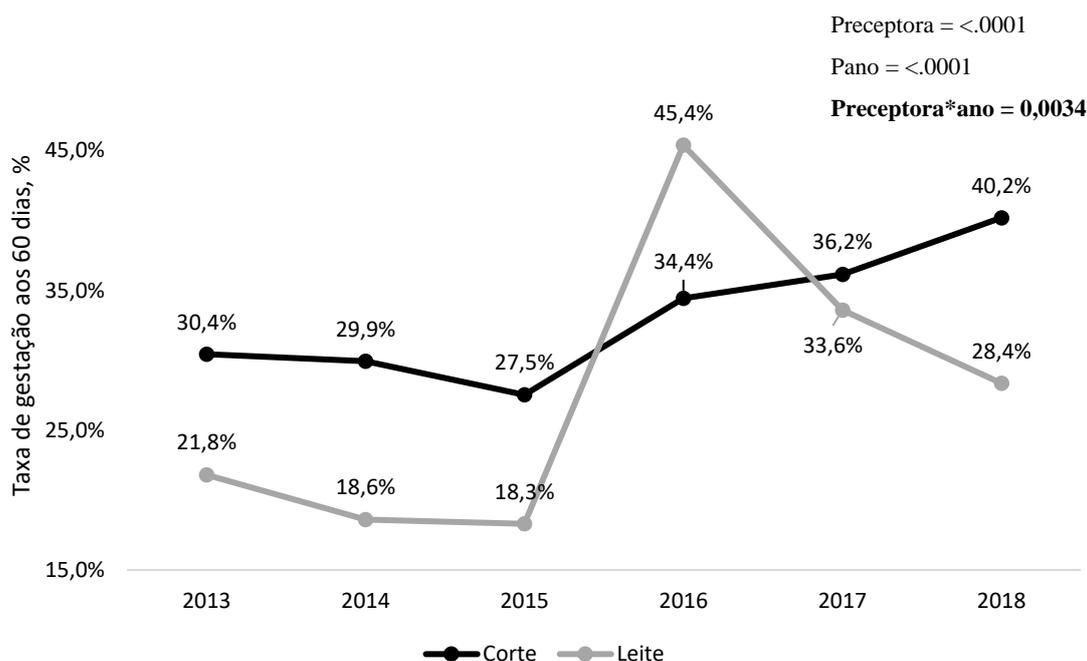


Figura 6: Taxa de gestação aos 60 dias (TG 60) de receptoras do corte (média de 32,97% [2003/6075]) e receptoras do leite (média de 25,73% [966/3754]) submetidas à TE-in vitro nos anos de 2013 a 2018.

As particularidades fisiológicas das subespécies *Bos taurus* e *Bos indicus* podem gerar respostas reprodutivas distintas em vários aspectos (BARUSELLI et al. 2007). Esses autores evidenciaram que o diâmetro folicular está relacionado com o tamanho do CL originado após a ovulação, portanto folículos maiores dão origem a um CL maior que irá secretar uma maior concentração de P4.

Sabe-se que a concentração circulante de P4 é diretamente proporcional a de interferon-tau no 16º dia após a ovulação. O interferon-tau é secretado pelas células do trofotoderma do embrião, sendo responsável por sinalizar ao organismo materno a presença do conceito. Caso não haja interferon-tau, ou sua concentração seja muito pequena, não há o reconhecimento da prenhez (BINELLI et al., 2001). Conseqüentemente ocorre lise do CL e se inicia um novo ciclo. Dessa forma, a P4 proporciona um melhor

desenvolvimento embrionário e melhor capacidade do embrião em sinalizar a sua presença, evitando perdas embrionárias precoces e conseqüentemente, alcançando maior taxa de gestação. Entretanto, apesar da produção de P4 por grama de tecido luteínico ser maior nas fêmeas *Bos taurus*, as fêmeas zebuínas (*Bos indicus*) possuem maior concentração circulante desse hormônio (BATISTA et al. 2020).

O desenvolvimento inicial do embrião, a implantação e a prenhez envolvem um diálogo complexo entre o embrião e a mãe. Processos imunológicos envolvendo citocinas, mastócitos e os macrófagos são uma parte importante desse diálogo. Entre as citocinas, interleucina-6 (IL-6) e o fator inibidor de leucemia (LIF) são secretados pelo embrião e o endométrio uterino e fazem parte de um diálogo permanente e recíproco. Mastócitos e macrófagos povoam o endométrio uterino durante o desenvolvimento do embrião e estão envolvidos em alcançar o equilíbrio correto entre as reações inflamatórias e anti-inflamatórias no útero que estão associadas à fixação do embrião e implantação (CAMPANILE et al., 2021).

Autores informam que a transferência de embriões bovinos produzidos *in vitro* para o oviduto de ovelhas por um período transitório aumenta a qualidade do embrião, particularmente no que diz respeito à sobrevivência após a criopreservação, resultando em uma maior taxa de prenhez após a transferência para as receptoras (ENRIGHT et al., 2000; LAZZARI et al., 2010; GAD et al., 2012). Esta é uma evidência clara de que fatores no trato reprodutivo feminino influenciam no desenvolvimento do embrião.

No estudo de Batista et al. (2020), os resultados estabeleceram um marco importante, mostrando que a expressão hepática de genes específicos pode explicar algumas das diferenças encontradas na concentração circulante de progesterona entre *B. indicus* e *B. taurus*. Essas diferenças parecem ser parcialmente moduladas pelo nível de ingestão de matéria seca que ativa o sistema enzimático hepático envolvido com o metabolismo de P4. Os autores discutem que os resultados obtidos corroboram com relatos científicos anteriores (SANGSRITAVONG et al., 2002) de que as estratégias de alimentação podem influenciar significativamente o metabolismo do fígado e este mecanismo é pelo menos parcialmente modulado por alterações na expressão gênica no tecido hepático.

Além disso, o aumento na ingestão de matéria seca provavelmente aumenta o fluxo sanguíneo para o fígado, desencadeando um maior catabolismo dos hormônios esteróides

pelo fígado, que representa a principal via de metabolismo de P4 (SANGSRITAVONG et al., 2002; WILTBANK et al., 2012).

Outros autores demonstraram uma diminuição das enzimas relacionadas a metabolização de P4 com o aumento da concentração de insulina (LEMLEY et al., 2008). Este estudo conclui que os aumentos agudos nas concentrações de insulina irão afetar a expressão de enzimas hepáticas relacionadas ao metabolismo de P4.

Corroborando com o presente estudo, onde observamos que as receptoras de corte (*Bos indicus*) obtiveram maior TG 60 na maioria dos anos do experimento (2013, 2014, 2015, 2017, 2018), menos em 2016, quando as receptoras de leite (*Bos taurus*) apresentaram melhor resultado. Esses dados suportam que as receptoras em lactação podem apresentar maior estresse térmico, nutricional e ao metabolismo, decorrente a elevada produção de leite e a adaptação da raça às condições tropicais, podendo alterar o ambiente uterino e comprometer o desenvolvimento embrionário e fetal. Esses efeitos negativos na fertilidade foram menos evidentes em receptoras de corte.

### 6.1.2. Taxa de aborto e natimorto

Para a variável TA (Tabela 1 e Figura 7) houve interação receptora\*ano ( $P = 0,0002$ ), com as receptoras de corte apresentando menor TA nos anos de 2014 a 2018. Entretanto, somente no ano de 2013 essa vantagem para as receptoras de corte não foi verificada.

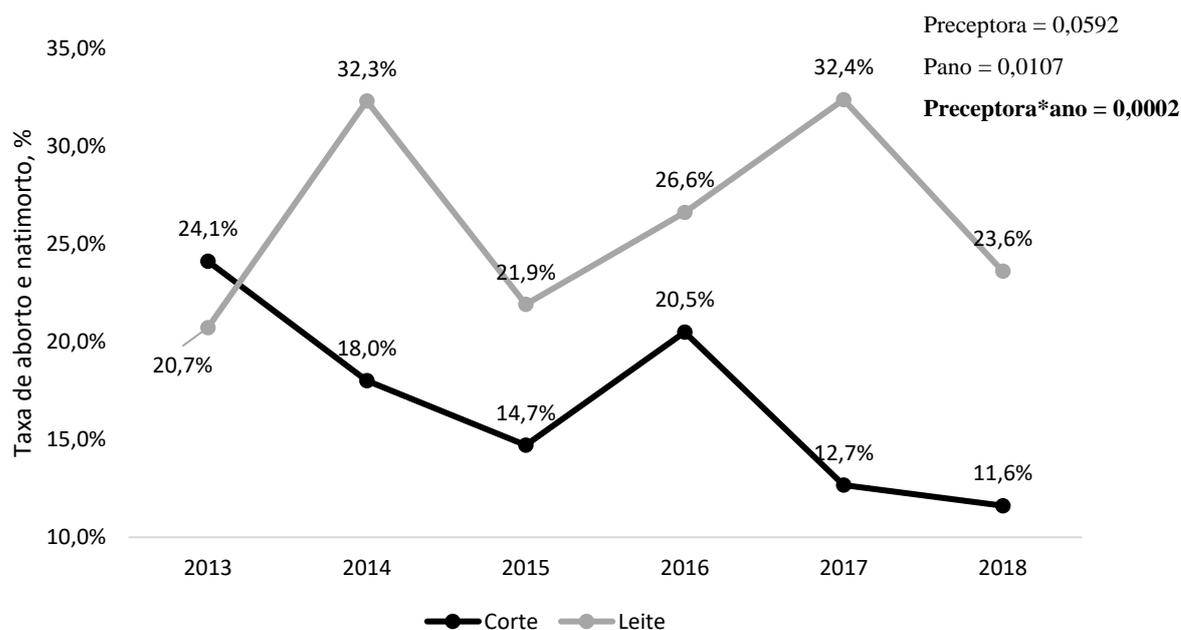


Figura 7: Taxa de aborto e natimorto (TA) de receptoras do corte (média de 16,9%; 339/2003) e receptoras do leite (média de 25,6%; 248/966) submetidas à TE-in vitro nos anos de 2013 a 2018.

Existem relatos na literatura que evidenciam diferenças significativas no fluxo sanguíneo da artéria uterina entre as subespécies das novilhas *Bos taurus* e *Bos indicus* (LEMLEY et al., 2018). Os autores apontam aumento do fluxo, da densidade de vasos sanguíneos cotiledonares (microscópico) e da densidade capilar do placentoma total (macroscópico) em novilhas *Bos indicus*, indicando atividade significativa de perfusão sanguínea em áreas específicas do placentoma em comparação com suas contrapartes. Com isso, é possível especular que novilhas *Bos indicus* apresentam a possibilidade de maior alimentação fetal, mantendo um bom ambiente uterino, desempenho da gestação e desenvolvimento do concepto, com possibilidades de redução da perda gestacional. Os autores completam que essas respostas podem ser atribuídas a um aumento na transcrição cotiledonar e abundância de fatores angiogênicos entres as raças.

O estresse por calor tem um efeito deletério pronunciado sobre a fertilidade em rebanhos leiteiros em todo o mundo, especialmente nos meses quentes e úmidos do verão em áreas tropicais e subtropicais, reduzindo a ingestão de alimentos e aumentando o balanço energético negativo, podendo levar a morte embrionária (BATISTA et al., 2020).

O fato de que fêmeas *Bos taurus* são mais sensíveis ao estresse térmico do que fêmeas *Bos indicus* já está bem estabelecido na literatura (THATCHER & COLLIER, 1986). Assim como as variações na temperatura ambiente, umidade e estresse térmico

podem alterar a ingestão de matéria seca, traduzindo em maiores flutuações na ingestão de matéria seca e vias de metabolismo endócrino relacionadas (BATISTA et al., 2020).

Os impactos negativos do verão, gerando estresse térmico, são principalmente relatados para o gado leiteiro devido à alta produção de leite e a ingestão de alimentação associada, que torna a regulação da temperatura corporal difícil durante o verão (BERMAN et al., 1985; UMPHREY et al., 2001). Além disso, a perda de prenhez é maior durante o verão do que em épocas mais frias (FREITAS et al., 2010; BARUSELLI et al., 2011). Receptoras com temperaturas corporais mais altas tiveram menor probabilidade de prenhez e maior probabilidade de perda embrionária após TE-*in vitro* (VASCONCELOS et al., 2006; DEMETRIO et al., 2007).

Existem estudos (SANTOS et al., 2004; ABDALLA et al., 2017) que associam fatores maternos (produção de leite, ECC, dias em lactação, complicações do período pós-parto, período entre o parto e a primeira inseminação, número de partos e abortos anteriores) e não maternos (estação do ano, anomalias de posições fetais, touro, protocolos de sincronização e manejo da fazenda) com a perda gestacional. Esses fatores devem ser avaliados para que seja feita uma abordagem preventiva ou terapêutica para diminuir os problemas de perda gestacional.

Selecionar animais com termotolerância superior, como raças bem adaptadas que são naturalmente mais resistentes ao verão (*Bos indicus*) ou ainda, selecionar fêmeas *Bos taurus* geneticamente identificadas como mais eficientes para termorregulação, seria uma possível vantagem na diminuição da TA (BARUSELLI et al., 2020).

No presente estudo, acredita-se que as diferenças fisiológicas entre as raças e o manejo das receptoras (estresse térmico e a sobrecarga alimentar decorrente a lactação em vacas Holandesas), possa interferir de forma negativa na manutenção da gestação, podendo ser indicativo de maior TA nos anos de 2014 a 2018 do período experimental em receptoras em lactação, conforme verificado na Figura 7. Ressalta-se que o manejo sanitário (vacinação e exames preventivos) das receptoras de corte e de leite foram semelhantes e no presente estudo não houve efeito de estação.

### 6.1.3. Taxa de nascimento

Para a variável TN (Tabela 1 e Figura 8) não houve interação entre receptora\*ano ( $P = 0,0832$ ). Verificou-se efeito significativo de receptora ( $P < 0,0001$ ) e ano ( $P < 0,0001$ ) para essa variável. A TN nos anos 2015 (78,6%) e 2018 (79,8%) foram elevadas nas duas raças. Nos anos de 2013, 2014, 2016 e 2017 as taxas foram intermediárias.

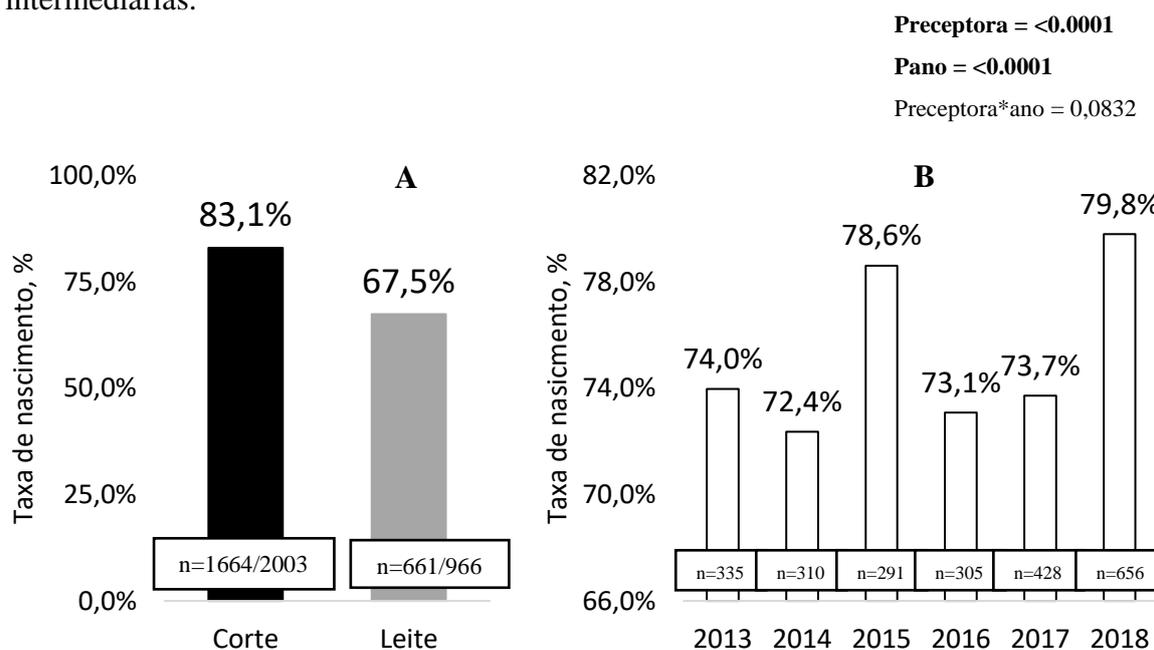


Figura 8: Taxa de nascimento (TN) de acordo com a raça da receptora (A; corte e leite) e o ano (B; 2013 a 2018). As receptoras receberam um embrião da raça Holandesa produzido *in vitro*.

Lobato et al. (2019) informaram que a categoria das receptoras, a estação do ano e o estágio de desenvolvimento embrionário afetam as taxas de concepção e as perdas gestacionais em receptoras de embriões da raça Girolando produzidos *in vitro* e TETF, corroborando com os dados do presente estudo.

Foi evidenciado em um estudo que receptoras que produzem mais leite apresentam menores taxas de prenhez após TETF do que receptoras que produzem menos leite (AL-KATANANI et al., 2002; BARUSELLI et al., 2020). Da mesma forma, em um estudo subsequente, vacas com maior produção de leite tiveram menor probabilidade de prenhez após TETF e superior probabilidade de perda embrionária (VASCONCELOS et al., 2006; BARUSELLI et al., 2020). Ao todo, estes dados da literatura são sugestivos de que a produção de leite pode afetar a taxa de gestação e a taxa de aborto e natimorto.

#### 6.1.4. Duração da gestação

Para a variável DUGr (Tabela 2 e Figura 9) não houve interação receptora\*ano ( $P=0,1148$ ). Entretanto, houve efeito estatístico para receptora ( $P=<0,0001$ ) e ano ( $P=<0,0001$ ), conforme mostra a Tabela 2 a seguir:

*Tabela 2: Duração da gestação (DUGr) de receptoras Holandesas em lactação (leite) e receptoras mestiças do corte (corte) submetidas à TE-in vitro nos anos de 2013 a 2018.*

	Leite	Corte	Valor de P		
			Receptora	Ano	Receptora*Ano
<b>DUGr (dias)</b>	274,0 ±0.23 (n=460)	269,0±0.21 (n=455)	<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>	0,1148

O processo adaptativo, ao meio extra-uterino, é dependente da ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, sendo mediado, principalmente, pelo cortisol, um potente estimulador do metabolismo (WOOD, 1999).

Acredita-se que o efeito estatístico para receptora e ano é decorrente da estreita relação entre o feto e a mãe. As receptoras de leite são de maior porte (aproximadamente 700kg) quando comparadas com as receptoras de corte (aproximadamente 450g). Na literatura existem relatos que evidenciam o efeito do sofrimento fetal na produção de cortisol e desencadeamento do parto (LEFCOURT & ELSASSER 1995). Estima-se que receptoras de menor porte, com fetos de semelhante padrão genético, desencadeiam antecipadamente a liberação de cortisol devido ao sofrimento fetal, ocorrendo a antecipação do momento do parto quando comparadas com receptoras de maior porte.

Apesar de alguns autores discutirem que existem diferenças fisiológicas entre as raças, afirmando que a duração da gestação é menor em *Bos taurus* que em *Bos indicus* (BARUSELLI et al., 2007), os resultados do presente estudo evidenciaram o contrário.

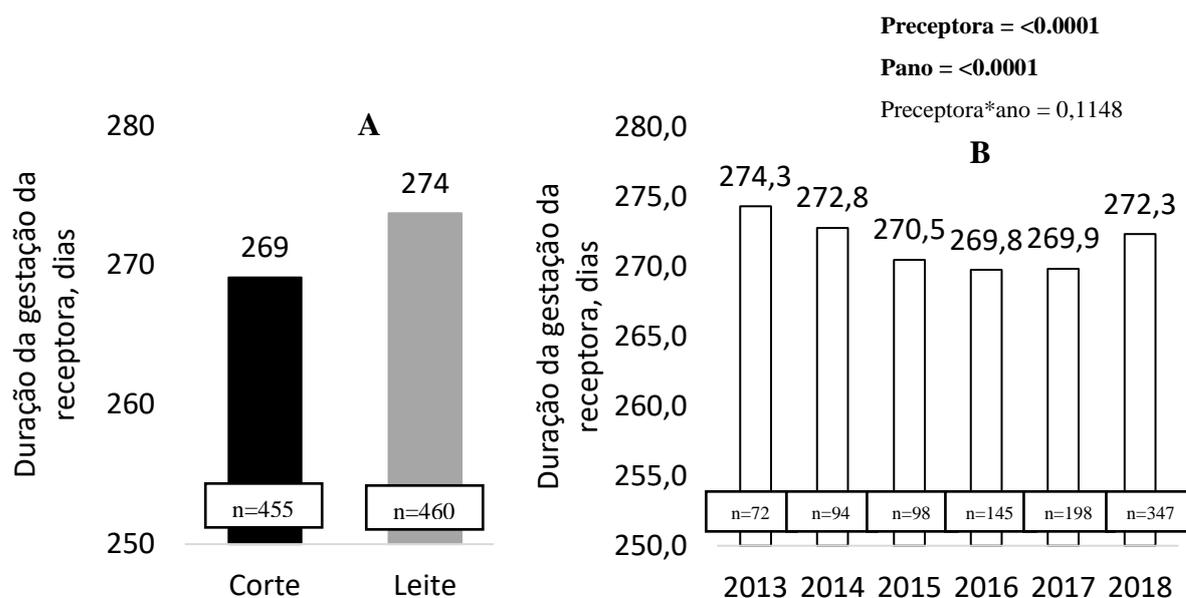


Figura 9: Duração da gestação da receptora (DUGr) por raça da receptora (A; corte e. leite) e por ano (B; 2013 a 2018). As receptoras receberam um embrião da raça Holandesa produzido *in vitro*.

Na Figura 9, pode-se observar que no ano de 2013 ocorreu maior duração da gestação ( $274,3 \pm 0,63$ ) quando comparado com os anos de 2015 ( $270,5 \pm 0,53$ ), 2016 ( $269,8 \pm 0,38$ ) e 2017 ( $269,9 \pm 0,40$ ). E 2014 ( $270,5 \pm 0,53$ ) e 2018 ( $272,3 \pm 0,27$ ) os dias de gestação se mantiveram intermediários.

## 6.2. DESEMPENHO REPRODUTIVO E PRODUTIVO DAS PROGÊNIES

Avaliando os indicadores reprodutivos e produtivos das progênies filhas de receptoras de leite ou filhas de receptoras do corte, geradas a partir da TE – *in vitro* de 2013-2018, foi possível avaliar os efeitos da receptora, do ano e da interação receptora\*ano, para as seguintes variáveis: informação genética para produção de leite (IG, litros), peso ao nascimento (PN, kg) e peso ao desmame (PD, kg). Avaliou-se também os dados reprodutivos da primeira gestação, como a idade à concepção (IP-CON, dias), duração da gestação (DUG, dias), taxa de aborto e natimorto (AB, %), taxa de auxílio no parto (AUX-PAR, %) e idade no parto (IP-PAR, dias). Assim como os dados produtivos da primeira lactação, como a produção de leite ajustada em 305 dias (PL305, litros), pico de produção de leite (PICO-LACT, litros) e a duração da lactação (DUR-LAC, dias).

Todos os índices avaliados por categoria animal (filhas de receptoras de leite ou de corte) e por ano (2013 a 2018). Os dados estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3: Análise das variáveis informação genética para produção de leite (IG, litros), peso ao nascimento (PN, kg), peso ao desmame (PD, kg), idade à concepção (IP-CON, dias), duração da gestação (DUG, dias), taxa de aborto e natimorto (AB, %), taxa de auxílio no parto (AUX-PAR, %), idade no parto (IP-PAR, dias), produção de leite ajustada em 305 dias (PL305, litros), pico de produção de leite (PICO-LACT, litros) e a duração da lactação (DUR-LAC, dias), por categoria animal (filhas de receptoras de leite ou de corte) geradas por TE-in vitro nos anos de 2013 a 2018.

	Receptoras de leite	Receptoras de corte	Valor de P		
			Receptora	Ano	Receptora *Ano
<b>IG (L)</b>	50,9±162,29 (n=30)	167,7±132,42 (n=41)	0,9180	0,6693	0,9996
<b>PN (kg)</b>	35,8±0,16 (n=426)	34,4±0,09 (n=406)	0,3990	0,0020	<b>0,0199</b>
<b>PD (kg)</b>	102,6±0,30 (n=435)	102,0±0,26 (n=339)	0,5151	0,0889	0,2896
<b>IP-CON (dias)</b>	463,2±2,37 (n=270)	475,4±2,76 (n=314)	0,0907	<b>&lt;0,0001</b>	0,0968
<b>DUG (dias)</b>	274,5 ±0,30 (n=276)	276,3±0,30 (n=286)	0,4808	0,3544	0,7524
<b>AB (%)</b>	13,2 (n=45/340)	7,0 (n=29/414)	0,9127	<b>0,0002</b>	0,8257
<b>AUX-PAR (%)</b>	39,0 (n=116/297)	35,7 (n=138/386)	0,9393	<b>0,0008</b>	0,0516
<b>IP-PAR (dias)</b>	738,0±2,82 (n=290)	746,1±3,09 (n=307)	0,9183	0,4409	0,4779
<b>PL305 (L)</b>	9314,8±369,19 (n=29)	10620,6±337,22 (n=41)	0,1018	<b>0,0224</b>	0,5729
<b>PICO-LACT (L)</b>	41,8±2,01 (n=17)	44,5±0,78 (n=39)	0,2211	<b>0,0048</b>	0,8225
<b>DUR-LACT (dias)</b>	345,3±24,63 (n=14)	371,4±16,13 (n=35)	0,5047	0,2484	0,7482

Houve interação receptora\*ano para PN apenas. Houve efeito de ano para as variáveis IP-CON, AB, AUX-PAR, PL305 e PICO-LACT. Já para as variáveis IG, PD, DUG, IP-PAR e DUR-LACT não houve efeito de receptora, ano e interação receptora\*ano.

### 6.2.1. Índice genômico para produção de leite

Os índices genômicos da progênie foram avaliados por um programa terceirizado (Clarifide®, Zoetis, Brasil) e no presente estudo foram classificados como co-variáveis para análise da produção de leite das progênies. *Clarifide Holandês®* é um painel de 40 mil marcadores que predizem o potencial genético de cada animal para 32 características.

Para o presente estudo, foi utilizado a característica produção de leite, que descreve diferenças genéticas na produção de leite para o período de lactação de 305 dias. Esse indicador é comparado à base de dados de aproximadamente 1 milhão de animais da raça Holandesa americana (ZOETIS, 2013). Esses valores de base genética são atualizados a cada 5 anos, sendo este último indicador atualizado em abril de 2020. A média de produção equivale ao marco zero na avaliação do indicador (“PTA Leite – Habilidade Prevista de Transmissão”), e um animal só transmite metade do valor que ele possui (metade vem da mãe e metade vem do pai). Para indicar o valor genético do próprio animal, foi utilizado o EBV (*Estimated Breeding Value*), que dobra o indicador de PTA Leite. Portanto, para a apresentação de dados, o valor PTA Leite foi corrigido para o potencial genético integral de produção de leite futura da bezerra (multiplicando por dois).

Para a co-variável IG (Tabela 3 e Figura 10) não houve interação receptora\*ano ( $P=0.9996$ ) e também não houve efeito de receptora ( $P=0.9180$ ) e de ano ( $P=0.6693$ ).

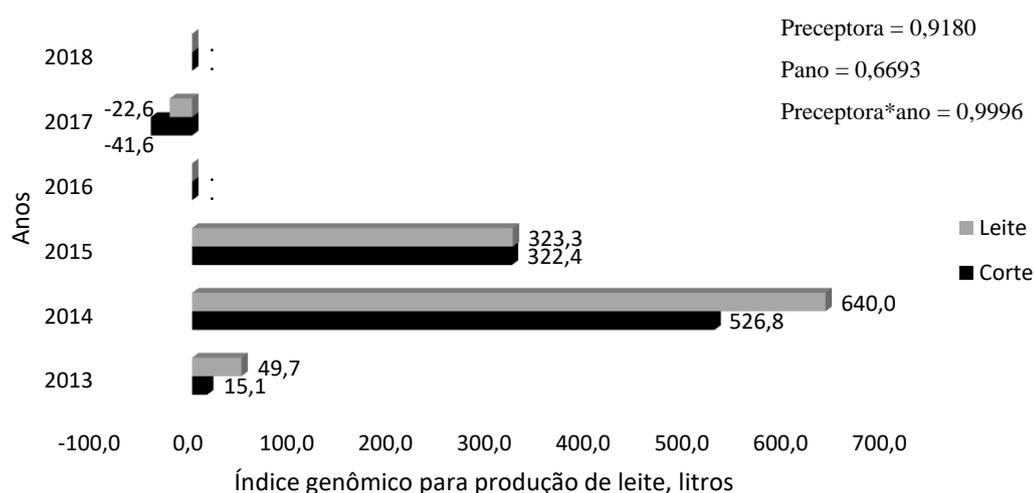


Figura 10: Índice genômico para produção de leite (IG) da progênie provenientes de receptoras do leite [média de 50,9 litros (n=30)] ou do corte [média de 167,8 litros (n=41)] nos anos de 2013 a 2018 geradas pela TE-in vitro.

Em 2016 e 2018 não houve registro de índice genômico para os animais que chegaram até o final da primeira lactação. Nos anos 2013 (n=14), 2014 (n=9) e 2015 (n=13) as médias ficaram intermediárias entre as categorias (corte e leite) e acima do banco de dados da base americana do Carifide®. No ano 2017 (n=35), as médias entre as categorias foram semelhantes, entretanto, encontravam-se de forma negativa em relação ao banco de dados da base americana do Carifide®.

Acredita-se que isto ocorreu devido a nova atividade comercial da fazenda utilizada para realizar o presente estudo, que necessitava produzir animais com os genes A2A2 para produção de leite com o genótipo A2. Portanto, animais que continham os genes A1A1 e A1A2, foram descartados independentemente da avaliação genética para produção de leite.

A Fazenda sempre buscou por doadoras com a maior produtividade de embriões, prioritariamente, pela necessidade de aumentar a eficiência reprodutiva do rebanho, utilizando a TE em vacas sob estresse térmico e em vacas receptoras de serviço (RODRIGUES et al., 2011). Recentemente, a incorporação de informação genômica em programas de melhoramento genético deve colaborar na melhora da performance produtiva e reprodutiva de vacas em lactação (BACH, 2019).

### 6.2.2. Peso ao nascimento

Para a variável PN, houve interação receptora\*ano ( $P = 0,0199$ ). Verificou-se que na maioria dos anos as progênes filhas de receptoras do leite [n=426 (média de  $35,8 \pm 0,16$ kg)] tiveram o peso ao nascimento maior quando comparado com as progênes filhas de receptoras do corte [n= 406 (média de  $34,4 \pm 0,09$ kg)]. Entretanto, verificou-se que somente no ano de 2016 a categoria de receptoras do leite obteve a média de PN menor que a categoria de receptoras do corte, conforme mostra a Tabela 3 e Figura 11.

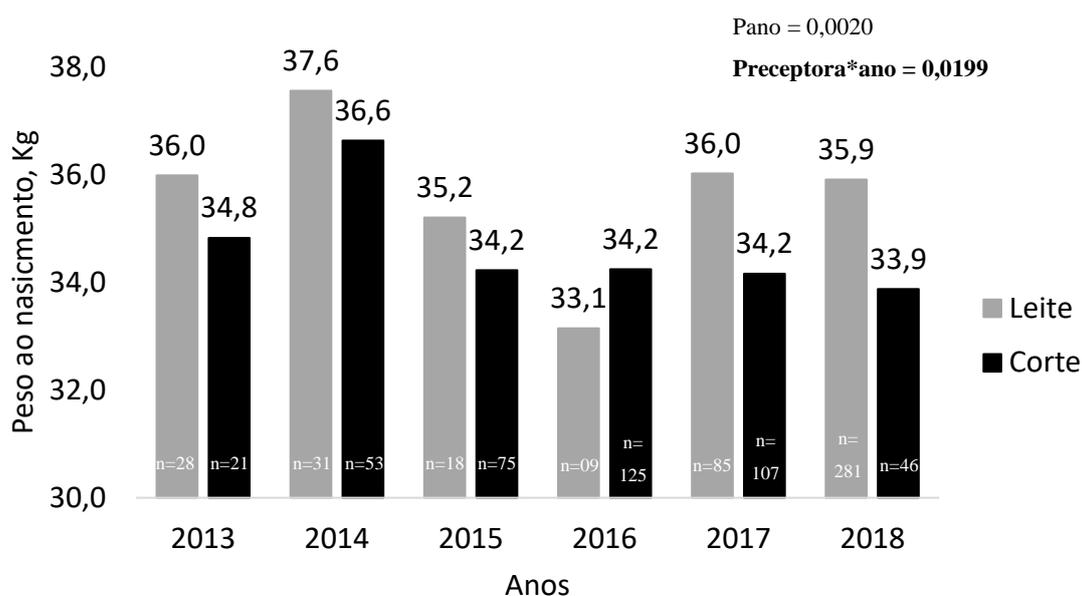


Figura 11: Peso ao nascimento (PN) das progênies filhas de receptoras do corte ou do leite nos anos de 2013 a 2018 geradas após a TE-in vitro.

O peso ao nascer é comumente utilizado como um critério de seleção precoce em criação de bovinos (KAYGISIZ et al. (2012). A genética e fatores ambientais, como idade da mãe, peso ao parto da mãe, habilidade materna, condições nutricionais da mãe, quantidade de bezerros nascidos (único ou gêmeos), duração da gestação, ano de parto, estação, biotécnica reprodutiva, touro, sexo do bezerro, tipo de nascimento, região geográfica e altitude podem influenciar no peso ao nascer do bezerro (SAKHARE & INGLÊS, 1983; SANG et al., 1986; HOLLAND & ODGE, 1992; ALPAN & ARPACIK, 1998; WATTIAUX, 1996).

Para outros autores, os principais fatores que afetam o peso ao nascer são a raça e indicadores relacionados à progenitora, tais como idade, paridade e estrutura corporal (NAAZIE et al., 1989). No presente estudo, as receptoras de leite possuíam uma estrutura corporal maior quando comparadas com as receptoras de corte, podendo ser um indicativo no aumento do PN na maioria dos anos (2013, 2014, 2015, 2017 e 2018, representando 83% dos anos avaliados).

Trabalhos indicam que existe uma relação positiva entre duração da gestação e peso ao nascimento (ANDERSEN & PLUM, 1965). Assim como demonstra os resultados do presente estudo, as receptoras de leite apresentaram gestações mais longas (Leite: 274,0 ±0,23 dias; Corte: 269,0±0,21 dias) e as progênies apresentaram peso ao nascimento maior na maioria dos anos avaliados (83%), corroborando com a literatura científica, na

qual informa que quanto mais longa a duração da gestação da progenitora maior é o peso ao nascimento da progênie.

### 6.2.3. Peso ao desmame

Para a variável PD (Tabela 3 e Figura 12) não houve interação receptora\*ano ( $P = 0,2896$ ) e também não houve efeito de receptora ( $P = 0,5151$ ) e de ano ( $P = 0,0889$ ).

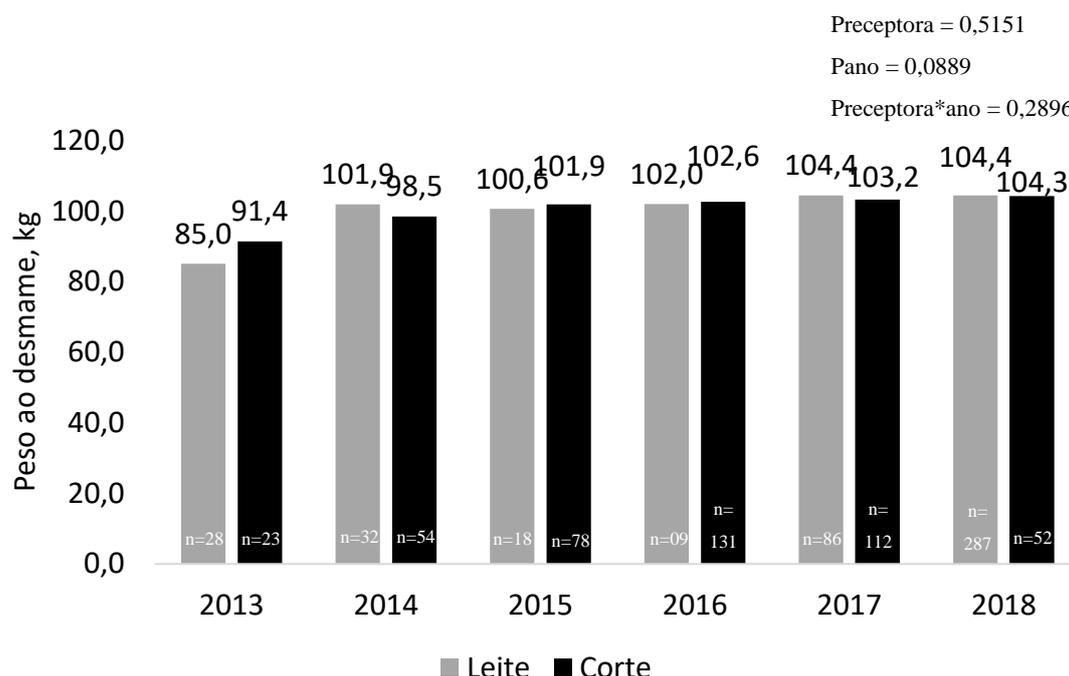


Figura 12: Peso ao desmame (PD) das progênies filhas de receptoras do leite ou do corte nos anos de 2013 a 2018.

As bezerras nascidas de receptoras do leite [ $n=435$  (média de  $102,6 \pm 0,30$ kg)] apresentaram semelhante PD quando comparadas com as bezerras nascidas de receptoras do corte [ $n=339$  (média de  $102,0 \pm 0,26$ kg)]. Não houve efeito de receptora e de ano, assim como não houve interação receptora\*ano. Nota-se que houve uma tendência de aumento do PD ao longo dos anos ( $P= 0,0889$ ), indicando uma melhora nos processos de criação das bezerras.

Durante o período de amamentação, o crescimento é significativamente afetado pela genética do bezerro, peso ao nascer, sexo do bezerro, duração do período de amamentação, quantidade de leite ou ingestão de substituto do leite, temperatura ambiente e práticas de manejo (AKBULUT et al., 1993; GREENWOOD & CAFE, 2007; BAYRIL

& YILMAZ, 2010; BATEMAN et al., 2012). No presente estudo estas variáveis citadas foram devidamente controladas entre as categorias (filhas de receptoras do leite ou do corte), pois a partir do momento do nascimento todas as bezerras foram mantidas no mesmo sistema de criação, independente da receptora na qual foi gerada.

#### 6.2.4. Idade à concepção

Para a variável IP-CON não houve interação receptora\*ano ( $P = 0,0968$ ) e não houve efeito de receptora ( $P = 0,0907$ ). Entretanto, houve efeito de ano ( $P = <0.0001$ ), conforme dados apresentados na Tabela 3 e Figura 13.

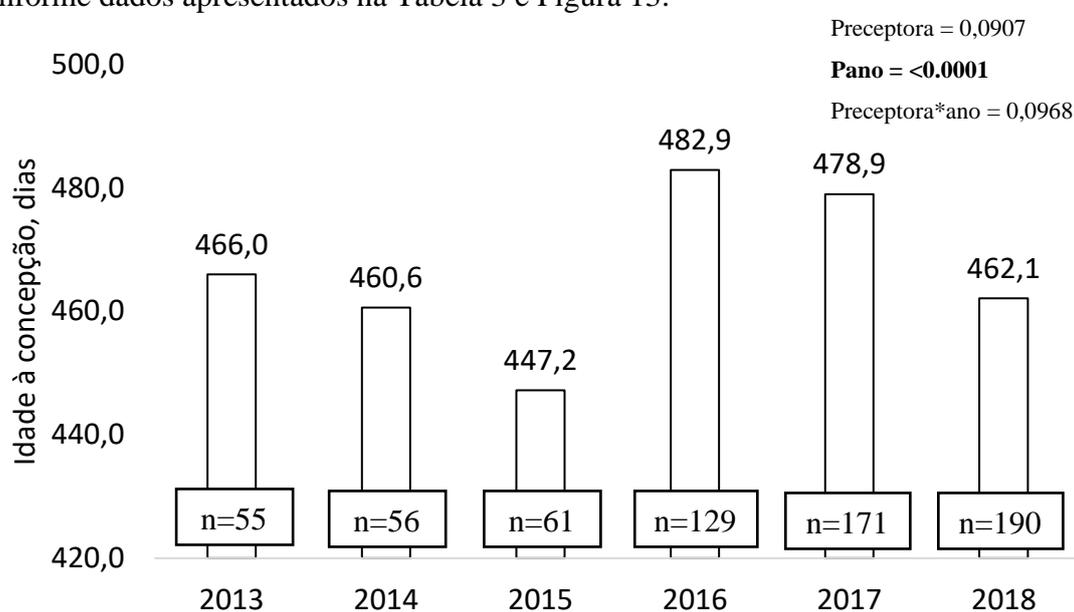


Figura 13: Idade à concepção (IP-CON) das novilhas filhas de receptoras do corte ou de leite nos anos de 2013 a 2018 geradas pela TE-in vitro.

Os resultados para a variável IP-CON apresentaram efeito de ano e podem ser explicados por melhorias no manejo da propriedade (alimentação, ambiência, sanidade, entre outros) durante os anos de levantamento de dados do presente estudo. Acredita-se que houve um aumento no ponto de corte de peso para entrada das novilhas no protocolo de IATF, visando um aumento na taxa de prenhez, nos anos 2016, 2017 e 2018. E ao longo dos últimos três anos avaliados, foi voltando aos patamares de 2013 e 2014.

Souza et al., 2015 informam que o ambiente uterino não influenciou na fertilidade futura da progênie, corroborando com os dados do presente estudo. Entretanto, os autores

acrescentam que matrizes de pior desempenho reprodutivo geram filhas com menor fertilidade, porém o status lactacional da matriz não afetou a fertilidade de suas descendentes.

### 6.2.5. Duração da gestação

Para a variável DUG não houve interação receptora\*ano ( $P = 0,7524$ ), como também não houve efeito de receptora ( $P = 0,4808$ ) e de ano ( $P = 0,3544$ ), conforme apresentado na Tabela 3 e Figura 14.

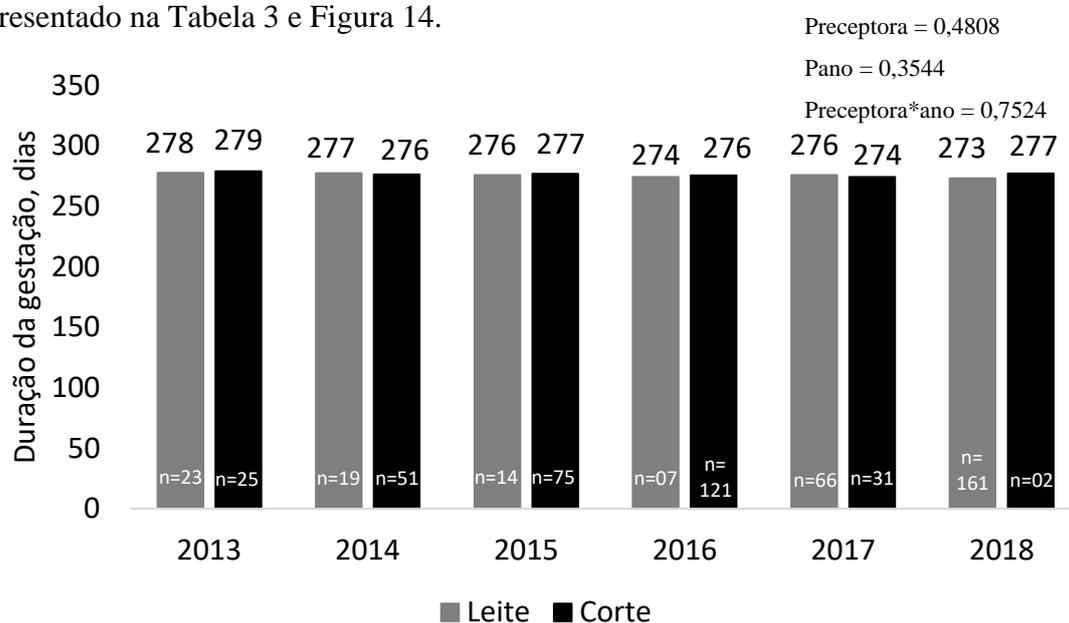


Figura 14: Duração da gestação (DUG) das novilhas filhas de receptoras de corte ou de leite nos anos de 2013 a 2018 geradas pela TE-in vitro.

As novilhas nascidas de receptoras do corte [ $n=286$  (média de  $276,3 \pm 0,30$  dias)] apresentaram semelhantes DUG quando comparadas com as novilhas nascidas de receptoras do leite [ $n=276$  (média de  $274,5 \pm 0,30$  dias)] nos anos avaliados no estudo. Ainda, não houve diferença de ano e interação receptora\*ano para essa variável.

De acordo com a literatura, a duração da gestação de fêmeas Holandesas (*Bos taurus*) varia de 276 a 280 dias (ANDERSEN & PLUM, 1965; NORMAN et al., 2009) e das vacas mestiças do corte (*Bos indicus*) em média de 287 dias. A duração da gestação pode ser afetada por diversos fatores, como idade da vaca (primíparas apresentam menor

duração) e temperatura ambiental, com menor duração associada às estações mais quentes do ano (ANDERSEN & PLUM, 1965).

Ainda, a duração da gestação afeta o desempenho produtivo e reprodutivo das vacas, com a presença de maiores índices de retenção de anexos fetais, metrite e descarte, e menores taxas de prenhez para vacas com gestação abaixo ou acima da média, respectivamente. Na progênie, existem relatos de maiores índices de mortalidade pós parto e descarte, e menores taxas de prenhez à primeira IA, também para vacas com gestação abaixo ou acima da média, respectivamente (VIEIRA-NETO et al., 2017).

Existe inúmeros fatores genéticos e ambientais que podem alterar a duração da gestação, entretanto, não se recomenda selecionar ou descartar animais com base nesse indicador (NORMAN et al., 2009).

#### 6.2.6. Taxa de aborto e natimorto

Para a variável AB não houve interação receptora\*ano ( $P = 0,8257$ ) e também não houve efeito de receptora ( $P = 0,9127$ ). Entretanto, houve efeito de ano ( $P = 0,0002$ ), conforme apresentado na Tabela 3 e Figura 15.

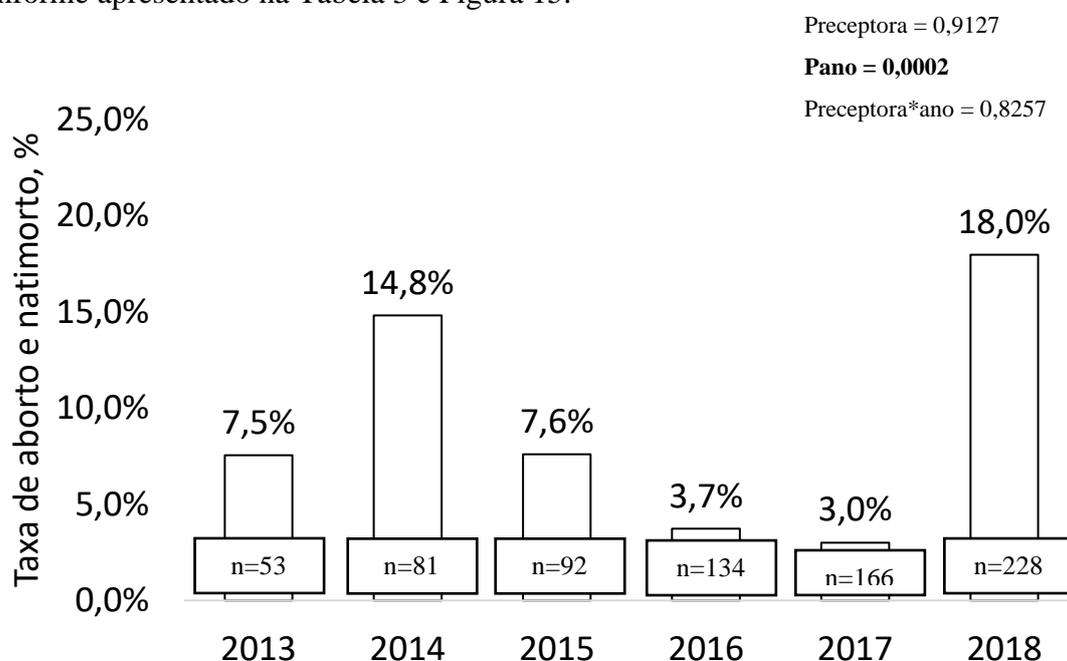


Figura 15: Taxa de aborto e natimorto (AB, %) das novilhas filhas de receptoras de leite ou de corte nos anos de 2013 a 2018 geradas pela TE-in vitro.

Observou-se que no ano de 2018 ocorreu a maior taxa de AB [média de 18.0% (n = 41/228)]. A menor taxa de AB foi em 2017 [média de 3.0% (n = 5/166); P=0,0002]. Não houve efeito de receptora [Leite: média de 13.2% (n = 45/340); Corte: média de 7.0% (n = 29/414); P=0,9127]. É provável que o aumento na taxa de AB é devido a dificuldades de manejo enfrentadas pela fazenda. Houve maior lotação de animais nas instalações e foram identificados problemas sanitários no rebanho. Ambos os problemas foram identificados e devidamente controlados.

Pesquisas demonstram que novilhas inseminadas com sêmen sexado apresentaram menores taxas de distocia e de natimortos, isso acontece por que existe maior porcentagem de fêmeas nascidas e, portanto, de menor tamanho ao parto e problemas relacionados (NORMAN et al., 2010). No presente estudo, as progênes receberam apenas IA convencional.

### 6.2.7. Taxa de auxílio no parto

Para a variável AUX-PAR não houve interação receptora\*ano (P = 0,0516) e também não houve efeito de receptora (P = 0,9393). Entretanto, houve efeito de ano (P = 0.0008)., conforme apresentado na Tabela 3 e Figura 16.

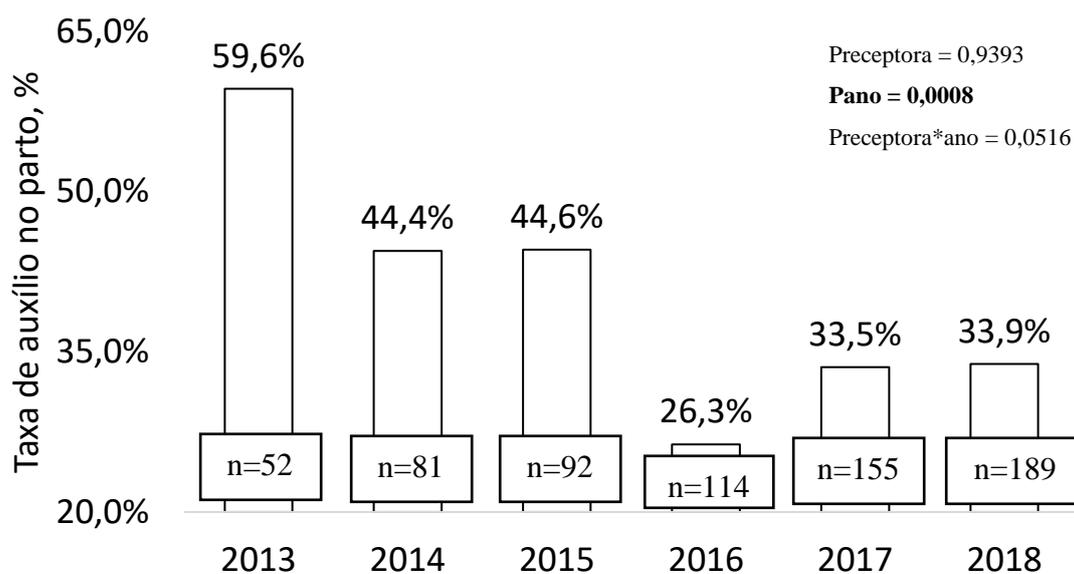


Figura 16: Taxa de auxílio no parto (AUX-PAR) das novilhas filhas de receptoras de leite ou de corte nos anos de 2013 a 2018 geradas pela TE- in vitro.

O ano de 2013 foi o maior para a taxa de AUX-PAR [média de 59.6% (n = 31/52)] e em 2016 a foi a menor taxa [média de 26.3% (n = 30/114)]. Já para as filhas das receptoras, a taxa de AUX-PAR não diferiu, sendo de 39,0% (116/297) para as receptoras de leite e de 35,7% (138/386) para as receptoras de corte. É provável que o aumento na taxa de AUX-PAR também seja devido a dificuldades de manejo enfrentadas pela fazenda, como comentando na variável AB, e também foram identificados e devidamente controladas.

O parto distócico, também denominado de laborioso, trabalhoso ou anormal, pode ser de causa materna ou fetal. A incompatibilidade entre a pelve da mãe e o tamanho do feto (IPF) é a mais importante causa de distocia (ANDERSEN et al. 1993). A IPF pode ocorrer como resultado do maior tamanho do feto, do menor diâmetro pélvico da mãe, ou de ambos. Os distúrbios hormonais, em vacas, causados por baixas concentrações de estrógenos, também são mencionados (OSINGA, 1978).

### 6.2.8. Idade no parto

Para a variável IP-PAR não houve interação receptora\*ano (P = 0,4779), não houve efeito de receptora (P = 0,9183) e de ano (P = 0,4409), conforme apresentado na Tabela 3 e Figura 17.

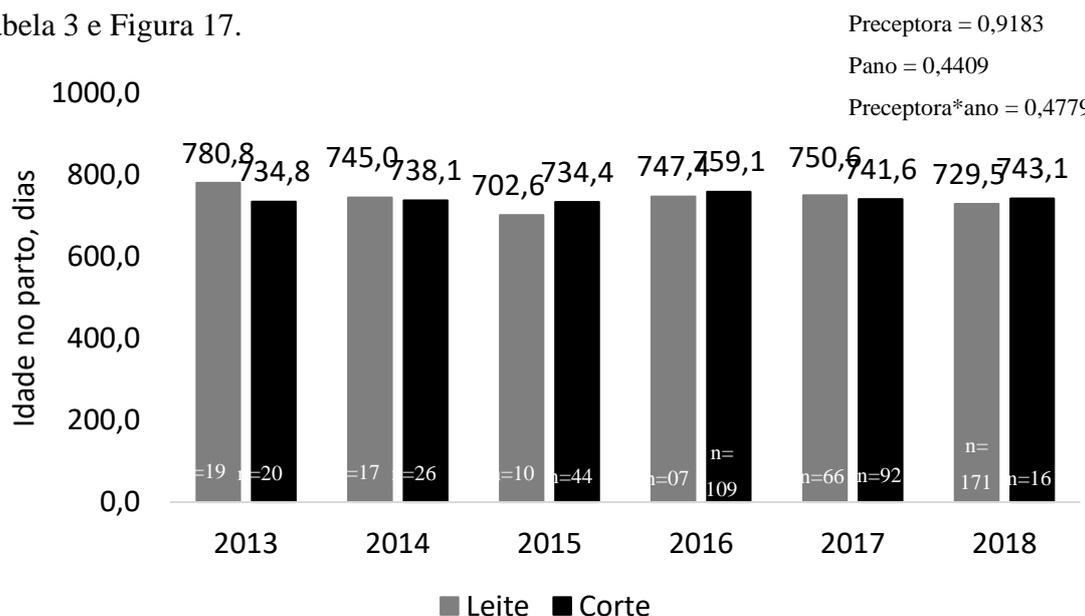


Figura 17: Idade no parto (IP-PAR) das primíparas filhas de receptoras do leite ou de corte nos anos de 2013 a 2018 geradas pela TE-in vitro.

Apesar de não ser observada diferença estatística a IP-PAR foi menor em 2018, quando comparado com 2013, ilustrando possível melhoria no sistema de criação das novilhas. Também não houve efeito estatístico para receptora [Leite: média de  $738.0 \pm 2.82$  dias ( $n=290$ ); Corte: média de  $746.1 \pm 3.09$  dias ( $n=307$ )].

O manejo de novilhas visando o primeiro parto entre 23 e 24,5 meses está associado ao maior retorno econômico do sistema de produção de leite. As novilhas que parem nessa idade têm melhores resultados de fertilidade e de produção de leite futura (VAN AMBURGH et al., 1998; DONOVAN et al., 2003; ETTEMA & SANTOS, 2004).

A diminuição da idade ao primeiro parto suscita preocupações com o processo do parto. É sabido que nesta categoria a incidência de partos distócicos é maior do que nas demais categorias.

#### 6.2.9. Produção de leite ajustada em 305 dias

Para a variável PL305 não houve interação receptora\*ano ( $P = 0,5729$ ), também não houve efeito de receptora ( $P = 0,1018$ ). Entretanto, houve efeito de ano ( $P = 0,0224$ ), conforme apresentado na Tabela 3 e Figura 18. Esta variável teve como co-variável a IG.

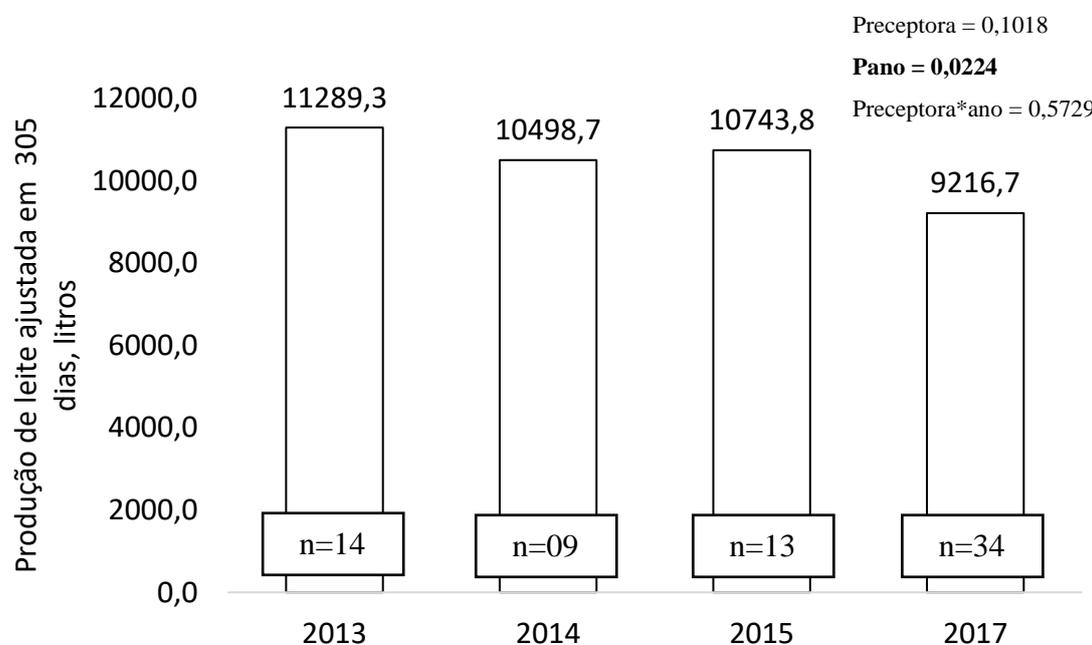


Figura 18: Produção de leite da primeira lactação ajustada em 305 dias (PL305) das primíparas filhas de receptoras de leite ou de corte, nos anos de 2013, 2014, 2015 e 2017 geradas por TE-in vitro.

Há dados sobre PL305 somente nos anos 2013, 2014, 2015 e 2017, com maior produção verificada em 2013 [11.289,3 litros (n=14)] quando comparada com 2017 [9.216,7 litros (n=34); P=0,0224]. Entretanto, não houve efeito de receptora [Corte: 10.620,6 litros (n=41); Leite: 9.314,8 litros (n=29)].

A menor produção de leite ilustrada em 2017 pode ser explicada pelo menor número de animais com a primeira lactação concluída (foram utilizadas no presente estudo somente as lactações finalizadas de animais genotipados). Essa variável pode ser justificada pelo resultado da IG, o qual indicou que não houve diferença do potencial genético da bezerra entre categorias de suas progenitoras (corte ou leite). Portanto, pelo fato de os animais apresentarem o mesmo padrão genético e estarem inseridos no mesmo sistema de produção, os dados do presente estudo são indicativos de que a receptora utilizada para a produção das fêmeas em lactação não interferiu na produção de leite da progênie.

Heinrichs & Heinrichs (2011) apontaram que diversos fatores podem influenciar a produção da primeira lactação, tais como enfermidades, consumo de matéria seca após o desmame e peso corporal ao primeiro serviço. Além disso, a produção de leite da receptora durante a gestação pode influenciar na produção de leite futura da progênie, ao passo que vacas em lactação de alta produção tendem a apresentar maior balanço energético negativo e, conseqüentemente, maior estresse metabólico durante a lactação e a gestação (FLEMING et al., 2018).

O entendimento sobre epigenética deve ajudar a melhorar a performance reprodutiva de vacas em lactação, visto que ao menos 80% de regiões não codificadas de DNA participam do controle da expressão gênica (FATIMA & MORRIS, 2013).

Estudiosos relatam que não existe informação em bovinos sobre a influência paterna nos marcadores epigenéticos. Entretanto, devido à larga utilização de biotécnicas reprodutivas essa influência, quando estudada, terá maior impacto do que a avaliação materna (BACH, 2019). Ainda, a dinâmica da epigenética é importante durante a maturação oocitária com reflexos no desenvolvimento embrionário durante o período de pré-implantação (RIVERA & ROSS, 2013).

A eficiência produtiva de uma vaca em lactação não depende apenas do seu genótipo e do ambiente no qual está inserida, mas também das alterações epigenéticas que podem ocorrer durante esse período. O conhecimento da origem dessas alterações pode

guiar intervenções que visem melhorar a eficiência da produção animal (HANSEN & SIQUEIRA, 2017).

### 6.2.10. Pico de produção de leite

Para a variável PICO-LACT não houve interação receptora\*ano ( $P = 0,8225$ ) e não houve efeito de receptora ( $P = 0,2211$ ). Entretanto, houve efeito de ano ( $P = 0,0048$ ), conforme apresentado na Tabela 3 e Figura 19. Esta variável teve como co-variável a IG.

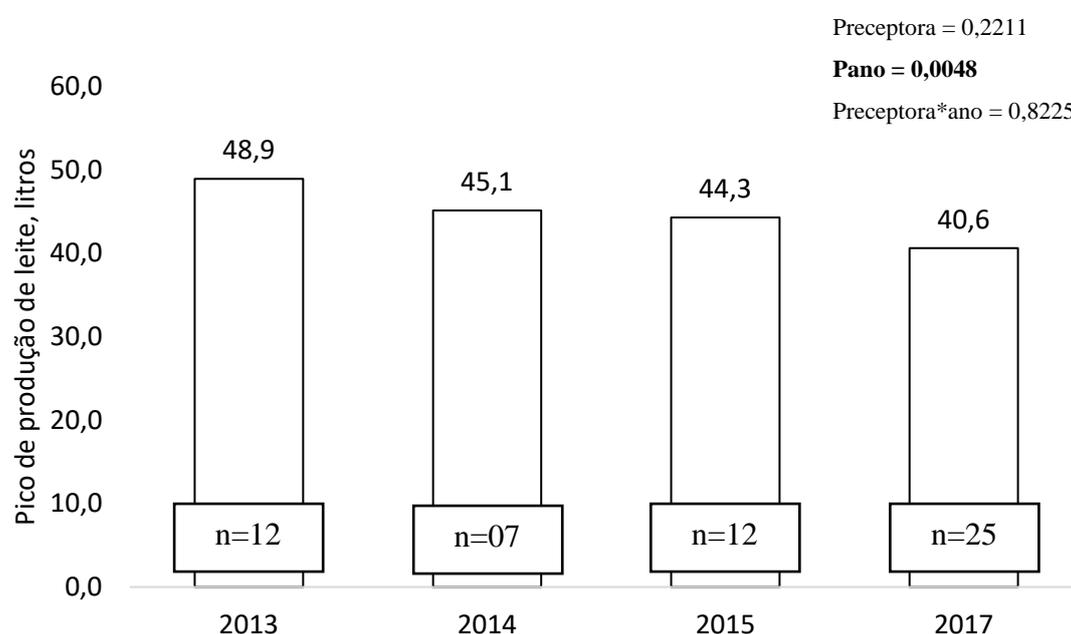


Figura 19: Pico de produção de leite (PICO-LACT) das primíparas filhas de receptoras de leite ou de corte, nos anos de 2013, 2014, 2015 e 2017 geradas por TE-in vitro.

Há dados sobre PICO-LACT somente nos anos 2013, 2014, 2015 e 2017. Verificou-se que em 2013 [48,9 litros (n=12)] o pico foi maior que em 2017 [40,6 litros (n=25);  $P=0,0048$ ]. Entretanto, não houve efeito estatístico de receptora, [Corte: 44,5 litros (n=39); Leite: 41,8 litros (n=17);  $P=0,2211$ ].

O menor pico de produção de leite verificado em 2017 pode ser explicado pelo menor número de animais com a primeira lactação concluída (foram utilizadas no presente estudo somente as lactações finalizadas de animais genotipados). Essa variável também pode ser justificada pelo resultado da IG, o qual indicou que não houve diferença do potencial genético da bezerra entre categorias de suas progenitoras (corte ou leite).

Ainda, como citado anteriormente, a Fazenda iniciou projeto para implementar o leite A2A2, descartando os animais A1A2 e A1A1, mesmo com elevado índice genético para produção de leite.

### 6.2.11. Duração da lactação

Para a variável DUR-LACT não houve interação receptora\*ano ( $P = 0,7482$ ), também não houve efeito de receptora (Leite: média de  $345,3 \pm 24,63$  dias ( $n=14$ ); vs Corte: média de  $371,4 \pm 16,13$  dias ( $n=35$ );  $P=0,5047$ ) e de ano ( $P = 0,2484$ ), conforme apresentado na Tabela 3 e Figura 20. Esta variável teve como co-variável a IG.

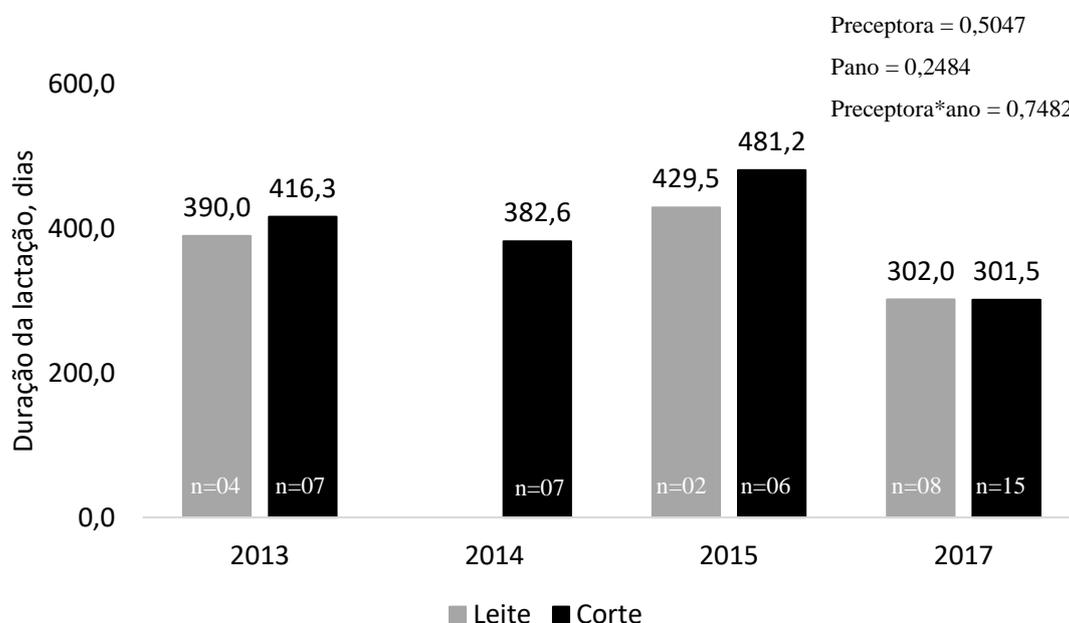


Figura 20: Duração da lactação (DUR-LACT) das primíparas filhas de receptoras de leite ou de corte, nos anos de 2013, 2014, 2015 e 2017 geradas por TE-in vitro.

A duração da lactação está associada às alterações na disponibilidade e qualidade dos alimentos, às diferenças no manejo e às mudanças genéticas do rebanho (GLÓRIA et al., 2006). Entretanto, no presente estudo os resultados para a variável DUR-LACT não foram influenciados pelo ano de produção e pela receptora utilizada para produzir a fêmea em lactação.

## 7. CONCLUSÕES

Sobre as variáveis indicadoras de eficiência reprodutiva das receptoras submetidas à TE-*in vitro* nos anos de 2013 a 2018, houve efeito de receptora apenas para a variável TN, a qual foi maior para as receptoras de corte, confirmando uma das hipóteses do presente estudo. Entretanto, as hipóteses de que a TG 60 seria maior e a TA menor para receptora de corte não foram confirmadas. A hipótese de que a DUGr seria menor em receptora de leite também não foi confirmada.

Para as variáveis indicadoras de eficiência reprodutiva e produtiva das progênes, não foram verificados efeitos significativos para as filhas de receptoras de leite ou de receptoras do corte geradas por TE-*in vitro* nos anos de 2013 a 2018, não confirmado a hipótese do presente estudo. Houve apenas interação receptora\*ano para PN e efeito de ano para as variáveis IP-CON, AB, AUX-PAR, PL305 e PICO-LACT. Já para as variáveis IG, PD, DUG, IP-PAR e DUR-LACT não houve efeito de receptora, de ano e nem interação receptora\*ano.

Tais resultados são indicativos de que não foi possível identificar efeitos das diferentes raças e manejo das receptoras na performance da progênie. Os dados do presente estudo suportam a possibilidade de utilização de receptoras de leite ou receptoras de corte em programas de transferência de embriões, sem evidenciar possíveis efeitos epigenéticos negativos na produção e reprodução de sua prole. Entretanto, são necessários mais estudos para avaliar os possíveis efeitos epigenéticos da receptora de embrião no desempenho da progênie, em especial, para os dados de produção de leite.

## 8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso de receptoras de corte de diferentes raças é preconizada visando melhorias no manejo e aumento da fertilidade dos rebanhos submetidos à programas de TE. Essa alternativa colabora para evitar possíveis problemas relacionados a fertilidade de vacas Holandesas de alta produção em lactação.

Existem estudos científicos que apontaram possíveis efeitos epigenéticos na prole que ocorrem nos processos iniciais do desenvolvimento embrionário conforme alterações no ambiente uterino. Os mecanismos epigenéticos promovem pequenas alterações químicas na sequência de DNA (metilação do DNA, modificações em histonas e a atuação dos RNA não codificantes), mudando a acessibilidade à cromatina e gerando mudanças na leitura dos genes, com alterações no fenótipo dos indivíduos. A epigenética promove modificações das funções genéticas que são herdadas, mas não alteram a sequência do DNA do indivíduo. Essas modificações não-genéticas são transmitidas de uma geração para outra.

Houve um desempenho reprodutivo ligeiramente superior para as receptoras mestiças de corte, assim como para o desempenho produtivo de sua progênie. Entretanto, as análises estatísticas do presente estudo não evidenciaram alterações fenotípicas que apontam possíveis efeitos epigenéticos, e suportam a utilização das receptoras vaca Holandesa em lactação ou vaca mestiça do corte, para a reprodução, melhoramento genético e produtivo dos rebanhos. Entretanto, são necessários mais estudos para avaliar os possíveis efeitos epigenéticos da receptora de embrião no desempenho da progênie.

## 9. REFERÊNCIAS

ABDALLA, H.; ELGHAFGHUF, A.; ELSOHABY, I.; NASR, M. A. F. Maternal and non-maternal factors associated with late embryonic and early fetal losses in dairy cows. **Theriogenology**, v. 100, p. 16–23, 2017.

ADAMIAK, S. J.; MACKIE, K.; WATT, R. G.; WEBB, R.; SINCLAIR, K. D. Impact of nutrition on oocyte quality: cumulative effects of body composition and diet leading to hyperinsulinemia in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 73, n. 5, p. 918–926, 2005.

AKBULUT Ö, TÜZEMEN N, AYDIN R. 1993. Erzurum şartlarında Siyah Alaca sığırların verimi. 2: Doğum ağırlığı, büyüme ve yaşama gücü özellikleri. **Türk Vet. Hay. Derg.**, 17(3): 193-200.

AL-KATANANI YM, DROST M, MONSON RL, RUTLEDGE JJ, KRININGER CE, BLOCK J, et al. Pregnancy rates following timed embryo transfer with fresh or vitrified *in vitro* produced embryos in lactating dairy cows under heat stress conditions. **Theriogenology** 2002;58:171e82.

ALPAN O, ARPACIK R. 1998. Sığır Yetiştiriciliği. **2. Baskı, Şahin Matbaası**, Ankara.

ALVAREZ P.; SPICER L.J.; CHASE C.C.J.R.; PAYTON M.E.; HAMILTON T.D.; STEWART R.E.; HAMMOND A.C.; OLSON T.A.; WETTEMANN R.P. 2000. Ovarian and endocrine characteristics during an estrous cycle in Angus, Brahman, and Senepol cows in a subtropical environment. **J Anim Sci** 78, 1291– 1302.

ANDERSEN K.J., BRINKS J.S., LEFEVER D.G., ODDE K.G. 1993. The factors associated with dystocia in cattle. **Vet. Med.** 88:764-776.

ANDERSEN, H.; PLUM, M. Gestation length and birth weight in cattle and buffaloes: a review. **Journal of Dairy Science**, v. 48, n. 9, p. 1224–1235, 1965.

ARAÚJO M.S., VOLPATO R., LOPES M.D. 2013 Produção de embriões bovinos *in vitro* com sêmen sexado. **Rev Ed Cont Med Vet Zoot CRMV-SP** 11(3): 8-15.

ARCHBOLD, H.; SHALLOO, L.; KENNEDY, E.; PIERCE, K. M.; BUCKLEY, F. Influence of age, body weight and body condition score before mating start date on the

pubertal rate of maiden Holstein-Friesian heifers and implications for subsequent cow performance and profitability. **Animal**, v. 6, n. 7, p. 1143–1151, 2012.

BACCARELLI, A.; BOLLATI, V. Epigenetics and environmental chemicals. **Curr Opin Pediatr**, v. 21, n. 2, p. 243–251, 2009.

BACH, À. Effects of nutrition and genetics on fertility in dairy cows. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 31, n. 1, p. 40–54, 2019.

BARUSELLI, P. S.; FERREIRA, R. M.; SÁ FILHO, M. F.; NASSER, L. F.; RODRIGUES, C. A.; BÓ, G. A. Bovine embryo transfer recipient synchronisation and management in tropical environments. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 22, n. 1, p. 67–74, 2010.

BARUSELLI, P. S.; FERREIRA, R. M.; SALES, J. N. S.; GIMENES, L. U.; SÁ FILHO, M. F.; MARTINS, C. M.; RODRIGUES, C. A.; BÓ, G. A. Timed embryo transfer programs for management of donor and recipient cattle. **Theriogenology**, v. 76, n. 9, p. 1583–1593, 2011.

BARUSELLI, P. S.; FERREIRA, R. M.; VIEIRA, L. M.; SOUZA, A. H.; BÓ, G. A.; RODRIGUES, C. A. Use of embryo transfer to alleviate infertility caused by heat stress. **Theriogenology**, v.155, p. 1-11, 2020.

BARUSELLI, P. S.; SOUZA, A. H.; SÁ FILHO, M. F.; MARQUES, M. O.; SALES, J. N. S. Genetic market in cattle (Bull, AI, FTAI, MOET and IVP): financial payback based on reproductive efficiency in beef and dairy herds in Brazil. **Animal Reproduction**, v. 15, n. 3, p. 247–255, 2018.

BARUSELLI, P.S.; GIMENES, L.U.; SALES, J.N.S. Fisiologia reprodutiva de fêmeas taurinas e zebuínas. **Revista Brasileira de reprodução Animal**, 31, n.2, p.205-211, 2007.

BARUSELLI, P.S.; SÁ FILHO, M.F.; FERREIRA, R.M.; SALES, J.N.S.; GIMENES, L.U.; VIEIRA, L.M.; MENDANHA, M.F.; BÓ, G.A. 2012. Manipulation of follicle development to ensure optimal oocyte quality and conception rates in cattle. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 47 Suppl 4, p.134-41.

BATEMAN HG, HILL TM, ALDRICH JM, SCHLOTTER RL, FIRKINS, JL. 2012. Meta analysis of the effect of initial serum protein concentration and empirical prediction model for growth of neonatal Holstein calves through 8 weeks of age. **J. Dairy Sci.**, 95: 363-369

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

BAYRIL T, YILMAZ O. 2010. Kazova Vasfi Diren Tarım İşletmesinde yetiştirilen Siyah Alaca buzağılarda büyüme performansı ve yaşama gücü. **YYU Vet Fak. Derg.**, 21(3): 169-173

BERMAN A, FOLMAN Y, KAIM M, MAMEN M, HERZ Z, WOLFENSON D, et al. Upper critical temperatures and forced ventilation effects for high-yielding dairy cows in a subtropical climate. **J Dairy Sci** 1985;68:1488e95.

BINELLI, M; THATCHER, W.W; MATTOS, R; BARUSELLI, P.S. Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. **Theriogenology**, 56:1415-1463. 2001

BLOCK, J.; BONILLA, L.; HANSEN, P. J. Efficacy of *in vitro* embryo transfer in lactating dairy cows using fresh or vitrified embryos produced in a novel embryo culture medium. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 11, p. 5234–5242, 2010.

BONILLA, L., BLOCK, J., DENICOL, A.C. e HANSEN, P.J. 2014. Consequences of transfer of an *in vitro*-produced embryo for the dam and resultant calf. **J. Dairy Sci.** (97):229-239.

BUABAN, S.; DUANGJINDA, M.; SUZUKI, M.; MASUDA, Y.; SANPOTE, J.; KUCHIDA, K. Genetic analysis for fertility traits of heifers and cows from smallholder dairy farms in a tropical environment. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 7, p. 4990–4998, 2015.

BURATINI J J.R.; PRICE C.A.; VISINTIN J.A.; BO G.A. 2000: Effects of dominant follicle aspiration and treatment with recombinant bovine somatotropin (BST) on ovarian follicular development in Nelore (*Bos indicus*) heifers. **Theriogenology** 54, 421– 431.

CAAMAÑO, J. N.; GÓMEZ, E.; TRIGAL, B.; MUÑOZ, M.; CARROCERA, S.; MARTÍN, D.; DÍEZ, C. Survival of vitrified invitro-produced bovine embryos after a one-step warming in-straw cryoprotectant dilution procedure. **Theriogenology**, v. 83, n. 5, p. 881–890, 2015.

CAMPANILE, G; BARUSELLI, P.S; LIMONE, A.; D'OCCHIO, M.J. Local action of cytokines and immune cells in communication between the conceptus and uterus during the critical period of early embryo development, attachment and implantation e Implications for embryo survival in cattle: A review. **Theriogenology** 167 (2021) 1e12

CAVALCANTI, C. M.; CAMPELO, I. S.; SILVA, M. M. A. S.; ALBUQUERQUE, J. V. S.; MELO, L. M.; FREITAS, V. J. F. Efficiency of different incubation systems for the *in vitro* production of bovine embryos. **Zygote**, v. 26, p. 314–318, 2018.

CEPEA. Boletim do leite. **Boletim do leite CEPEA ESALQ/USP**, v. 295, p. 8, 2020.

CHEN, Z.; HAGEN, D. E.; WANG, J.; ELSIK, C. G.; JI, T.; SIQUEIRA, L. G.; HANSEN, P. J.; RIVERA, R. M. Global assessment of imprinted gene expression in the bovine conceptus by next generation sequencing. **Epigenetics**, v. 11, n. 7, p. 501–516, 2016.

COLAZO, M. G.; MAPLETOFT, R. J. Pregnancy per AI in Holstein heifers inseminated with sexed semen after detected estrus or timed-AI. **Canadian Veterinary Journal**, v. 58, n. 4, p. 365–370, 2017.

COLAZO, M.G. Y MAPLETOFT, R.J. Fisiología del Ciclo Estral Bovino (pp. 31 a 46). **Revista Ciencias Veterinarias**, Vol. 16, N° 2, 2014 (ISSN 1515-1883).

DE VRIES, M. J.; VEERKAMP, R. F. Energy balance of dairy cattle in relation to milk production variables and fertility. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 1, p. 62–69, 2000.

DE WAAL E, et al. Gonadotropin stimulation contributes to an increased incidence of epimutations in ICSI-derived mice. **Hum Mol Genet**. 2012;21:4460–72.

DEMETRIO, D.G.B.; SANTOS, R.M.; DEMETRIO, C.G.B.; VASCONCELOS, J.L.M. 2007. Factors affecting conception rates following artificial insemination or embryo transfer in lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 11, p.5073-82.

DESHMUKH, R. S.; OSTRUP, O.; STREJCEK, F.; VEJLSTED, M.; LUCAS-HAHN, A.; PETERSEN, B.; LI, J.; CALLESEN, H.; NIEMANN, H.; HYTTEL, P. Early aberrations in chromatin dynamics in embryos produced under *in vitro* conditions. **Cellular reprogramming**, v. 14, n. 3, p. 225–34, 2012.

DISKIN, M. G.; MORRIS, D. G. Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 43, n. 2, p. 260–267, 2008.

DO, V. H.; CATT, S.; AMAYA, G.; BATSIOKIS, M.; WALTON, S.; TAYLOR-ROBINSON, A. W. Comparison of pregnancy in cattle when non-vitrified and vitrified *in vitro*-derived embryos are transferred into recipients. **Theriogenology**, v. 120, p. 105–110, 2018.

DOHERTY, R.; O’FARRELLY, C.; MEADE, K. G. Epigenetic regulation of the innate immune response to LPS in bovine peripheral blood mononuclear cells (PBMC). **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 154, n. 3–4, p. 102–110, 2013.

DONOVAN, G. A.; BENNETT, F. L.; SPRINGER, F. S. Factors associated with first service conception in artificially inseminated nulliparous Holstein heifers. **Theriogenology**, v. 60, n. 1, p. 67–75, 2003.

DOS SANTOS, E. C.; VARCHETTA, R.; DE LIMA, C. B.; ISPADA, J.; MARTINHO, H. S.; FONTES, P. K.; NOGUEIRA, M. F. G.; GASPARRINI, B.; MILAZZOTTO, M. P. The effects of crocetin supplementation on the blastocyst outcome, transcriptomic and metabolic profile of *in vitro* produced bovine embryos. **Theriogenology**, v. 123, p. 30–36, 2019.

EMBRAPA. Novos produtos e novas estratégias da cadeia do leite para ganhar competitividade e conquistar os clientes finais. **Anuario Leite 2019**, n. 35 art, p. 104, 2019.

ENRIGHT BP, LONERGAN P, DINNYES A, FAIR T, WARD FA, YANG X, BOLAND MP. Culture of *in vitro* produced bovine zygotes *in vitro* vs *in vivo*: implications for early embryo development and quality. *Theriogenology* 2000;54:659e73.

ETTEMA, J. F.; SANTOS, J. E. P. Impact of Age at Calving on Lactation, Reproduction, Health, and Income in First-Parity Holsteins on Commercial Farms. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 8, p. 2730–2742, 2004.

FAO. Global agriculture towards 2050. **How to Feed the World 2050**, p. 46–58, 2009.

FARIN, P. W.; PIEDRAHITA, J. A.; FARIN, C. E. Errors in development of fetuses and placentas from *in vitro*-produced bovine embryos. **Theriogenology**, v. 65, n. 1, p. 178–191, 2006.

FATIMA, A.; MORRIS, D. G. MicroRNAs in domestic livestock. **Physiological Genomics**, v. 45, n. 16, p. 685–696, 2013.

FAULK C, DOLINOY DC. Timing is everything: the when and how of environmentally induced changes in the epigenome of animals. **Epigenetics**. 2011;6:791–7.

FERREIRA, R. M.; AYRES, H.; CHIARATTI, M. R.; FERRAZ, M. L.; ARAÚJO, A. B.; RODRIGUES, C. A.; WATANABE, Y. F.; VIREQUE, A. A.; JOAQUIM, D. C.; SMITH, L. C.; MEIRELLES, F. V.; BARUSELLI, P. S. The low fertility of repeatbreeder cows during summer heat stress is related to a low oocyte competence to develop into blastocysts. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 5, p. 2383–2392, 2011.

FIGUEIREDO R., BARROS C., PINHEIRO O. & SOLER J. Ovarian follicular dynamics in Nelore breed (*Bos indicus*) cattle. **Theriogenology** 47, 1489-505. (1997).

FLEMING, A.; ABDALLA, E. A.; MALTECCA, C.; BAES, C. F. Invited review: reproductive and genomic technologies to optimize breeding strategies for genetic progress in dairy cattle. **Archives Animal Breeding**, v. 61, n. 1, p. 43–57, 2018.

FLEURY, P. D. C.; SANCHES, B. V.; CARDOSO, B. L.; BASSO, A. C.; ARNOLD, D. R.; TANNURA, J. H.; PEREIRA, M. H. C.; GAITKOSKI, D.; SENEDA, M. M.

Comparison of pregnancy rates after fresh, vitrified or cryopreserved *in vitro* produced embryos for direct transfer. **Animal Reproduction**, v. 12, n. 828 (abstract), 2014.

FODOR, I.; BAUMGARTNER, W.; ABONYI-TÓTH, ZS.; LANG, ZS.; ÓZSVÁRI, L. Associations between management practices and major reproductive parameters of Holstein-Friesian replacement heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 188, p. 114–122, 2018.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). **Cenário da demanda por alimentos no Brasil**, 2019.

FORDE, N.; BELTMAN, M. E.; LONERGAN, P.; DISKIN, M.; ROCHE, J. F.; CROWE, M. A. Oestrous cycles in *Bos taurus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 124, n. 3–4, p. 163–169, 2011.

FREITAS BG, SALES JNS, TEIXEIRA AA, FERREIRA RM, AYRES H, RANIERI AL, et al. Embryonic loss (between 30 and 60 days) followed to artificial insemination or embryo transfer in high production Friesian dairy cattle. **Acta Sci Vet** 2010;38:s675e821.

GAD A, HOELKER M, BESENFELDER U, HAVLICEK V, CINAR U, RINGS F, HELD E, DUFORT I, SIRARD M-A, SCHELLANDER K, TESFAYE D. Molecular mechanisms and pathways involved in bovine embryonic genome activation and their regulation by alternative *in vivo* and *in vitro* culture conditions. **Biol Reprod** 2012;87:100.

GIMENES L.U.; FANTINATO NETO P.; ARANGO J.S.P.; AYRES H.; BARUSELLI P.S. 2009: Follicular dynamics of *Bos indicus*, *Bos taurus* and *Bubalus bubalis* heifers treated with norgestomet ear implant associated of not to injectable progesterone. **Anim Reprod** 6, 256.

GINTHER O.J.; WILTBANK M.C.; FRICKE P.M.; GIBBONS J.R.; KOT K. 1996: Selection of the dominant follicle in cattle. **Biol Reprod** 55, 1187–1194.

GINTHER, O. J.; KASTELIC, J. P.; KNOPF, L. Composition and characteristics of follicular waves during the bovine estrous cycle. **Animal Reproduction Science**, v. 20, p. 187–200, 1989b.

GINTHER, O. J.; KNOFF, L.; KASTELIC, J. P. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two and three follicular waves. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 87, n. 1987, p. 223–230, 1989a.

GLÓRIA, J.R; BERGMANN, J.A.G; REIS, R.B; COELHO, M.S; SILVA, M.A. Efeito da composição genética e de fatores de meio sobre a produção de leite, a duração da lactação e a produção de leite por dia de intervalo de partos de vacas mestiças Holandês-Gir Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.58, n.6, p.1139-1148, 2006

GRANLEESE, T.; CLARK, S. A.; SWAN, A. A.; VAN DER WERF, J. H. J. Increased genetic gains in multi-trait sheep indices using female reproductive technologies combined with optimal contribution selection and genomic breeding values. **Animal Production Science**, v. 57, n. 10, p. 1984–1992, 2017.

GRAZUL-BILSKA AT, et al. Placental development during early pregnancy in sheep: effects of embryo origin on fetal and placental growth and global methylation. **Theriogenology**. 2013;79:94–102.

GREEN, B. B.; KERR, D. E. Epigenetic contribution to individual variation in response to lipopolysaccharide in bovine dermal fibroblasts. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 157, n. 1–2, p. 49–58, 2014.

GREENWOOD PL, CAFE LM. 2007. Prenatal and pre-weaning growth and nutrition of cattle: long-term consequences for beef production. **Animal**, 1:9:1283-1296

HAMM, C. A.; COSTA, F. F. Epigenomes as therapeutic targets. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 151, p. 72–86, 2015.

HANSEN, P. J. Current and future assisted reproductive technologies for mammalian farm animals. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 752, p. 1–22, 2014.

HANSEN, P. J.; SIQUEIRA, L. G. B. Postnatal consequences of assisted reproductive technologies in cattle. **Animal Reproduction**, v. 14, n. 3, p. 490–496, 2017.

HASLER, J. F. Forty years of embryo transfer in cattle: a review focusing on the journal *Theriogenology*, the growth of the industry in North America, and personal reminiscences. **Theriogenology**, v. 81, n. 1, p. 152–169, 2014.

HEINRICHS, A. J.; HEINRICHS, B. S. A prospective study of calf factors affecting first-lactation and lifetime milk production and age of cows when removed from the herd. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p. 336-341, 2011.

HOFFMAN, P. C.; FUNK, D. A. Applied dynamics of dairy replacement growth and management. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 9, p. 2504–2516, 1992.

HOLLAND MD, ODGE KG. 1992. Factors affecting calf birth weight: A review. **Theriogenology**, 38: 769-798.

HOLLIDAY R. Epigenetics comes of age in the twentyfirst century. **J Genet.** 2002;81:1–4.

INBAR-FEIGENBERG M, et al. Basic concepts of epigenetics. **Fertil Steril.** 2013;99:607–15.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Relatório** 2019.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Relatório** 2018.

INSTITUTO DE ESTUDOS PECUÁRIOS (IEPEC). **Portal de capacitação técnica, educação continuada e eventos.** 2016.

IRELAND J.J.; WARD F.; JIMENEZ-KRASSEL F.; IRELAND J.L.; SMITH G.W.; LONERGAN P.; EVANS A.C.O. 2007: 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. **Hum Reprod** 22, 1687–1695.

JUENGEL, J.L., CUSHMAN, R.A., DUPONT, JOE LLE., FABRE, S., LEA, R.G., MARTIN, G.B., MOSSA, F., PITMAN, J.L., PRICE, C.A., SMITH, P. The ovarian follicle of ruminants: the path from conceptus to adult. *Reproduction, Fertility and Development*, 2021. **Journal compilation CSIRO** 2021.

KANIYAMATTAM, K., BLOCK, J., HANSEN, P.J. e DE VRIES, A. 2017. Comparison between an exclusive *in vitro*-produced embryo transfer system and artificial insemination for genetic, technical, and financial herd performance. **J. Dairy Sci.** (100):5729-5745.

KAWASHIMA, C.; FUKIHARA, S.; MAEDA, M.; KANEKO, E.; MONTROYA, C. A.; MATSUI, M.; SHIMIZU, T.; MATSUNAGA, N.; KIDA, K.; MIYAKE, Y.; SCHAMS, D.; MIYAMOTO, A. Relationship between metabolic hormones and ovulation of dominant follicle during the first follicular wave post-partum in high-producing dairy cows. **Reproduction Research**, v. 133, p. 155–163, 2007.

KAWASHIMA, C.; MATSUI, M.; SHIMIZU, T.; KIDA, K.; MIYAMOTO, A. Nutritional factors that regulate ovulation of the dominant follicle during the first follicular wave postpartum in high-producing dairy cows. **Journal of Reproduction and Development**, v. 58, n. 1, p. 10–16, 2012.

KAYGISIZ A, BAKIR G, YILMAZ I. 2012. Genetic parameters for direct and maternal effects and an estimation of breeding values for birth weight of Holstein Friesian calves. **Bulg. J. Agric. Sci.**, 18: 117-124

KIM JK, SAMARANAYAKE M, PRADHAN S. Epigenetic mechanisms in mammals. **Cell Mol Life Sci.** 2009;66:596–612.

KIM, I.; JEONG, J. K. Risk factors limiting first service conception rate in dairy cows, and their economic impact. **Asian-Australas Journal Animal Science**, p. 1–21, 2018.

LAZZARI G, COLLEONI S, LAGUTINA I, CROTTI G, TURINI P, TESSARO I, BRUNETTI D, DUCHI R, GALLI C. Short-term and long-term effects of embryo culture in the surrogate sheep oviduct versus *in vitro* culture for different domestic species. **Theriogenology** 2010;73:748e57

LEFCOURT A.M; ELSASSER T.H. 1995. Adrenal responses of Angus x Hereford cattle to the stress of weaning. **J. Anim. Sci.** 73(9):2669- 2676.

LEMLEY CO, KOCH JM, BLEMINGS KP, KRAUSE KM, WILSON ME. Concomitant changes in progesterone catabolic enzymes, cytochrome P450 2C and 3A, with plasma

insulin concentrations in ewes supplemented with sodium acetate or sodium propionate. **Animal** 2008;2:1223 e 9.

LEMLEY et al. Maternal nutrient restriction alters uterine artery hemodynamics and placentome vascular density in *Bos indicus* and *Bos taurus*. Oxford University Press on behalf of the American Society of Animal Science. **J. Anim. Sci.** 2018.96:4823–4834. doi: 10.1093/jas/sky329.

LEROY, J. L. M. R.; VAN SOOM, A.; OPSOMER, G.; GOOVAERTS, I. G. F.; BOLS, P. E. J. Reduced fertility in high-yielding dairy cows: are the oocyte and embryo in danger? Part II. Mechanisms linking nutrition and reduced oocyte and embryo quality in high-yielding dairy cows. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 43, n. 5, p. 623– 632, 2008.

LOBATO, M.D; MARQUES, F.L.A; SOARES, M.M; FARIA, A.C.F; CADIMA, G.P; SANTOS, R.M. Fatores que influenciam a taxa de concepção e perda gestacional de embriões produzidos *in vitro* na raça girolando. **Ciência Animal**, v.29, n.3, p.50.58, 2019.

LOMANDER, H.; FROSSLING, J.; INGVARTSEN, K. L.; GUSTAFSSON, H.; SVENSSON, C. Supplemental feeding with glycerol or propylene glycol of dairy cows in early lactation-Effects on metabolic status, body condition, and milk yield. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 5, p. 2397–2408, 2012.

LONERGAN, P. Influence of progesterone on oocyte quality and embryo development in cows. **Theriogenology**, v. 76, n. 9, p. 1594–1601, 2011.

LUCAS E. Epigenetic effects on the embryo as a result of periconceptional environment and assisted reproduction technology. **Reprod Biomed Online**. 2013;27:477–85.

MACDONALD WA. Epigenetic mechanisms of genomic imprinting: common themes in the regulation of imprinted regions in mammals, plants, and insects. **Genet Res Int**. 2012.

MAK W, WEAVER JR, BARTOLOMEI MS. Is ART changing the epigenetic landscape of imprinting? **Anim Reprod**. 2010;7:168–76.

MAPLETOFT, R. J.; BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S. Control of ovarian function for assisted reproductive technologies in cattle. **Animal Reproduction**, v. 6, n. 1, p. 114–124, 2009.

MARINHO, L. S. R.; UNTURA, R. M.; MOROTTI, F.; MOINO, L. L.; RIGO, A. G.; SANCHES, B. V. Large-scale programs for recipients of *in vitro* -produced embryos. **Animal Reproduction**, v. 9, n. 3, p. 323–328, 2012.

METZGER, J.; CHEBEL, R. C. Factors affecting success of embryo collection and transfer in large dairy herds. **Theriogenology**, v. 69, p. 98–106, 2008.

MOORE, S. G.; HASLER, J. F. A 100-Year Review: reproductive technologies in dairy science. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 12, p. 10314–10331, 2017.

MOSSA F.; KENNY D.; JIMENEZ-KRASSEL F.; SMITH G.W.; BERRY D.; BUTLER S.; FAIR T.; LONERGAN P.; IRELAND J.J.; EVANS A.C.O. 2009: Undernutrition of Heifers during the First Trimester of Pregnancy Diminishes Size of the Ovarian Reserve in Female Offspring. **42nd Annual Meeting of the Society for Study of Reproduction**, Vol. Abstract 135. Pittsburg, PA, P. 77.

NAAZIE, A.; MAKARECHIAN, R.; BERG, R. T. Factors influencing calving difficulty in beef heifers. **Journal of Animal Science**, v. 67, n. 12, p. 3243–3249, 1989.

NORMAN, H. D.; HUTCHISON, J. L.; MILLER, R. H. Use of sexed semen and its effect on conception rate, calf sex, dystocia, and stillbirth of Holsteins in the United States. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 8, p. 3880–3890, 2010.

NORMAN, H. D.; WRIGHT, J. R.; KUHN, M. T.; HUBBARD, S. M.; COLE, J. B.; VANRADEN, P. M. Genetic and environmental factors that affect gestation length in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 5, p. 2259–2269, 2009.

NUMABE, T.; OIKAWA, T.; KIKUCHI, T.; HORIUCHI, T. Birth weight and birth rate of heavy calves conceived by transfer of *in vitro* or *in vivo* produced bovine embryos. **Animal Reproduction Science**, v. 64, n. 1–2, p. 13–20, 2000.

OBEIDAT, Y.; CATANDI, G.; CARNEVALE, E.; CHICCO, A. J.; DEMANN, A.; FIELD, S.; CHEN, T. A multi-sensor system for measuring bovine embryo metabolism. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 126, p. 615–623, 2019.

OSBORNE-MAJNIK A, FU Q, LANE RH. Epigenetic mechanisms in fetal origins of health and disease. **Clin Obstet Gynecol**. 2013; 56:622–32.

OSINGA A.1978. Endocrine aspects of bovine dystocia with special reference to estrogens. **Theriogenology** 10:114-166.

PAIBOMESAI, M.; HUSSEY, B.; NINO-SOTO, M.; MALLARD, B. A. Effects of parturition and dexamethasone on DNA methylation patterns of IFN- $\gamma$  and IL-4 promoters in CD4+ T-lymphocytes of Holstein dairy cows. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 77, n. 1, p. 54–62, 2013.

PAVANI, K.; CARVALHAIS, I.; FAHEEM, M.; CHAVEIRO, A.; REIS, F. V.; MOREIRA, F. Reproductive performance of Holstein dairy cows grazing in drysummer subtropical climatic conditions: effect of heat stress and heat shock on meiotic competence and *in vitro* fertilization. **Asian-Australas Journal Animal Science**, v. 28, n. 3, p. 334–342, 2015.

PELLEGRINO, C. A. G.; MOROTTI, F.; UNTURA, R. M.; PONTES, J. H. F.; PELLEGRINO, M. F. O.; CAMPOLINA, J. P.; SENEDA, M. M.; BARBOSA, F. A.; HENRY, M. Use of sexed sorted semen for fixed-time artificial insemination or fixed-time embryo transfer of *in vitro* – produced embryos in cattle. **Theriogenology**, v. 86, p. 888–893, 2016.

PUTNEY, D. J.; DROST, M.; THATCHER, W. W. Influence of summer heat stress on pregnancy rates of lactating dairy cattle following embryo transfer or artificial insemination. **Theriogenology**, v. 31, n. 4, p. 765–778, 1989.

RASMUSSEN, S.; BLOCK, J.; SEIDEL, G. E.; BRINK, Z.; MCSWEENEY, K.; FARIN, P. W.; BONILLA, L.; HANSEN, P. J. Pregnancy rates of lactating cows after transfer of *in vitro* produced embryos using X-sorted sperm. **Theriogenology**, v. 79, n. 3, p. 453–461, 2013.

RIVERA, R. M.; ROSS, J. W. Epigenetics in fertilization and preimplantation embryo development. **Progress in Biophysics and Molecular Biology**, v. 113, n. 3, p. 423–432, 2013.

ROCHE, J. F. Control and regulation of folliculogenesis - a symposium in perspective. **Reviews of Reproduction**, v. 1, n. 1, p. 19–27, 1996.

RODRIGUES, C. A.; TEIXEIRA, A. A.; FERREIRA, R. M.; AYRES, H.; MANCILHA, R. F.; SOUZA, A. H.; BARUSELLI, P. S. Effect of fixed-time embryo transfer on reproductive efficiency in high-producing repeat-breeder Holstein cows. **Animal Reproduction Science**, v. 118, n. 2–4, p. 110–117, 2010.

RODRIGUES, C.A; FERREIRA, R.M; VIEIRA, L.M; et al. How FTAI and FTET Impact Reproductive Efficiency of Brazilian Dairy Herds. **Acta Scientiae Veterinariae**, 2011. 39(Suppl 1): s3 - s13

SÁ FILHO, M. F.; AYRES, H.; FERREIRA, R. M.; NICHI, M.; FOSADO, M.; CAMPOS FILHO, E. P.; BARUSELLI, P. S. Strategies to improve pregnancy per insemination using sex-sorted semen in dairy heifers detected in estrus. **Theriogenology**, v. 74, n. 9, p. 1636–1642, 2010.

SÁ FILHO, M. F.; MENDANHA, M. F.; SALA, R. V.; CARVALHO, F. J.; GUIMARAES, L. H. C.; BARUSELLI, P. S. Use of sex-sorted sperm in lactating dairy cows upon estrus detection or following timed artificial insemination. **Animal Reproduction Science**, v. 143, n. 1–4, p. 19–23, 2013.

SAKHARE PG, INGLE UM. 1983. Genetic and non-genetic factors affecting birth weight in Holstein x Sahiwal crossbred calves. **Indian J. Dairy Sci.**, 36: 184-186

SALES, J. N. S.; IGUMA, L. T.; BATISTA, R. I. T. P.; QUINTAO, C. C. R.; GAMA, M. A. S.; FREITAS, C.; PEREIRA, M. M.; CAMARGO, L. S. A.; VIANA, J. H. M.; SOUZA, J. C.; BARUSELLI, P. S. Effects of a high-energy diet on oocyte quality and *in vitro* embryo production in *Bos indicus* and *Bos taurus* cows. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 5, p. 3086–3099, 2015.

SALES, J. N. S.; NEVES, K. A. L.; SOUZA, A. H.; CREPALDI, G. A.; SALA, R. V.; FOSADO, M.; FILHO, E. C. P.; DE FARIA, M.; SÁ FILHO, M. F.; BARUSELLI, P. S. Timing of insemination and fertility in dairy and beef cattle receiving timed artificial insemination using sex-sorted sperm. **Theriogenology**, v. 76, n. 3, p. 427–435, 2011.

SANG BC, CHO Y, KIM KK. 1986. Repetability estimates of gestation length and birth weight and the environmental effects on these traits in dairy cattle. **Korean J. Anim Sci.**, 28: 184-187.

SANGSRITAVONG S, COMBS D, SARTORI R, ARMENTANO L, WILTBANK M. High feed intake increases liver blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17b in dairy cattle. **J Dairy Sci** 2002;85:2831e42.

SANTOS, J. E. P. Implementation of reproductive programs in dairy herds. **Cattle Practice**, v. 16, p. 5-13, 2008.

SANTOS, J. E. P.; JUCHEM, S. O.; CERRI, R. L. A.; GALVÃO, K. N.; CHEBEL, R. C.; THATCHER, W. W.; DEI, C. S.; BILBY, C. R. Effect of bST and Reproductive Management on Reproductive Performance of Holstein Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 4, p. 868–881, 2004.

SARTORI R.; BARROS C.M. 2011: Reproductive cycles in *Bos indicus* cattle. **Anim Reprod Sci** 124, 244–250.

SARTORI R; BASTOS M.R.; BARUSELLI P.S.; GIMENES L.U.; ERENO R.L.; BARROS C.M. 2010: Physiological difference and implications the reproductive management of *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle in a tropical environment. **Reproduction in Domestic Ruminants VII. Nottingham University Press, Nottingham**, pp. 357–375.

SARTORI, R.; DODE, M. A. N. Morte embrionária na IA, TE, FIV e clonagem. **Biotecnologia da Reprodução em Bovinos**, 3º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, p. 175–194, 2008.

SARTORI, R.; PRATA, A. B.; SANCHES, B. V.; PONTES, G. C. S.; VIANNA, J. H. M.; PONTES, J. H.; VASCONCELOS, J. L. M.; PEREIRA, M. H. C.; DODE, M. A. N.;

MONTEIRO, P. L. J.; BARUSELLI, P. S. Update and overview on assisted reproductive technologies (ARTs) in Brazil. **Animal Reproduction**, v. 13, n. 3, p. 300–312, 2016b.

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

SHI W., HAAF T. Aberrant methylation patterns at the two-cell stage as an indicator of early developmental failure. **Mol Reprod Dev.** 2002;63:329–34.

SILVA, T. V.; LIMA, F. S.; THATCHER, W. W.; SANTOS, J. E. P. Synchronized ovulation for first insemination improves reproductive performance and reduces cost per pregnancy in dairy heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 11, p. 7810–7822, 2015.

SINGH, K.; ERDMAN, R. A.; SWANSON, K. M.; MOLENAAR, A. J.; MAQBOOL, N. J.; WHEELER, T. T.; ARIAS, J. A.; QUINN-WALSH, E. C.; STELWAGEN, K. Epigenetic regulation of milk production in dairy cows. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v. 15, n. 1, p. 101–112, 2010.

SIQUEIRA, L. G. B. et al. Postnatal phenotype of dairy cows is altered by *in vitro* embryo production using reverse X-sorted semen. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 7, p. 5899–5908, 2017.

SKINNER MK. Environmental epigenomics and disease susceptibility. **EMBO Rep.** 2011;12:620–2.

SKINNER, M. K. Environmental epigenetics and a unified theory of the molecular aspects of evolution: A neo-Lamarckian concept that facilitates neo-Darwinian evolution. **Genome Biology and Evolution**, v. 7, n. 5, p. 1296–1302, 2015.

SOARES, J. G.; MARTINS, C. M.; CARVALHO, N. A. T.; NICACIO, A. C.; ABREU-SILVA, A. L.; CAMPOS FILHO, E. P.; TORRES JÚNIOR, J. R. S.; SÁ FILHO, M. F.; BARUSELLI, P. S. Timing of insemination using sex-sorted sperm in embryo production with *Bos indicus* and *Bos taurus* superovulated donors. **Animal Reproduction Science**, v. 127, n. 3–4, p. 148–153, 2011.

SOUZA, A.H; MATTOS, M.C.C; GODOI, B.C; BATISTA, E.O.S; BARUSELI, P.S. Influência do ambiente uterino (matriz em lactação ou não) e fertilidade da matriz no desempenho reprodutivo futuro da sua prole em vacas holandesas. **Reunião anual da sociedade brasileira de tecnologia de embriões**. 2015.

STEVENSON, J. L.; RODRIGUES, J. A.; BRAGA, F. A.; BITENTE, S.; DALTON, J. C.; SANTOS, J. E. P.; CHEBEL, R. C. Effect of breeding protocols and reproductive tract score on reproductive performance of dairy heifers and economic outcome of breeding programs. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 9, p. 3424–3438, 2008.

STEVENSON, J. S.; BRITT, J. H. A 100-Year review: practical female reproductive management. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 12, p. 10292–10313, 2017.

STEWART, B. M.; BLOCK, J.; MORELLI, P.; NAVARETTE, A. E.; AMSTALDEN, M.; BONILLA, L.; HANSEN, P. J.; BILBY, T. R. Efficacy of embryo transfer in lactating dairy cows during summer using fresh or vitrified embryos produced *in vitro* with sex-sorted semen. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 7, p. 3437–3445, 2011.

SULLIVAN T.M.; MICKE G.C.; GREER R.M.; IRVINGRODGERS H.F.; RODGERS R.J.; PERRY V.E. 2009: Dietary manipulation of *Bos indicus* x heifers during gestation affects the reproductive development of their heifer calves. **Reprod Fertil Dev** 21, 773–784.

THATCHER W, COLLIER R. Effects of climate on bovine reproduction. **Current Theriogenology** 1986;2:301e9.

THATCHER, W. W. A 100-Year review: historical development of female reproductive physiology in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 12, p. 10272–10291, 2017.

TILLARD, E.; HUMBLLOT, P.; FAYE, B.; LECOMTE, P.; DOHOO, I.; BOCQUIER, F. Postcalving factors affecting conception risk in Holstein dairy cows in tropical and subtropical conditions. **Theriogenology**, v. 69, n. 4, p. 443–457, 2008.

TRÍBULO, P.; BERNAL BALLESTEROS, B. H.; RUIZ, A.; TRIBULO, A.; TRIBULO, R. J.; TRIBULO, H. E.; BÓ, G. A.; HANSEN, P.J. Consequences of exposure of embryos

produced *in vitro* in a serum-containing medium to dickkopf-related protein 1 and colony stimulating factor 2 on blastocyst yield, pregnancy rate, and birth weight. **Journal of Animal Science**, v. 95, n. 10, p. 4407–4412, 2017.

TŠUIKO, O.; CATTEEUW, M.; ESTEKI, M. Z.; DESTOUNI, A.; PASCOTTINI, O. B.; BESENFELDER, U.; HAVLICEK, V.; SMITS, K.; KURG, A.; SALUMETS, A.; D’HOOGHE, T.; VOET, T.; VAN SOON, A.; VERMEESCH, J. R. Genome stability of bovine *in vivo* conceived cleavage-stage embryos is higher compared to *in vitro* produced embryos. **Human Reproduction**, v. 32, n. 11, p. 2348–2357, 2017.

UMPHREY JE, MOSS BR, WILCOX CJ, VAN HORN HH. Interrelationships in lactating Holsteins of rectal and skin temperatures, milk yield and composition, dry matter intake, body weight, and feed efficiency in summer in Alabama. **J Dairy Sci** 2001;84:2680e5.

UNDESA. World prospects 2019. **United Nations Department of Economic and Social Affairs**, 2019.

UNDESA. World Urbanization Prospects 2018. **United Nations Department of Economic and Social Affairs**, 2018.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA). **Relatório** 2018.

URREGO, R.; RODRIGUEZ-OSORIO, N.; NIEMANN, H. Epigenetic disorders and altered gene expression after use of assisted reproductive technologies in domestic cattle. **Epigenetics**, v. 9, n. 6, p. 803–815, 2014.

VAN AMBURGH, M. E.; GALTON, D. M.; BAUMAN, D. E.; EVERETT, R. W.; FOX, D. G.; CHASE, L. E.; ERB, H. N. Effects of three prepubertal body growth rates on performance of Holstein heifers during first lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 2, p. 527–538, 1998.

VANROOSE, G.; DE KRUIF, A.; VAN SOOM, A. Embryonic mortality and embryopathogen interactions. **Animal Reproduction Science**, v. 60–61, p. 131–143, 2000.

VASCONCELOS JLM, DEMETRIO DGB, SANTOS RM, CHIARI JR, RODRIGUES C A, SÁ FILHO OG. Factors potentially affecting fertility of lactating dairy cow recipients. **Theriogenology** 2006;65:192e200.

VIANA, J. H. M. Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals. **Embryo Technology Newsletter of the 45th Annual Conference of IETS**, v. 36, p. 8–19, 2018.

VIANA, J. H. M.; FIGUEIREDO, A. C. S.; SIQUEIRA, L. G. B. Brazilian embryo industry in context: pitfalls, lessons, and expectations for the future. **Animal Reproduction**, v. 14, n. 3, p. 476–481, 2017.

VIEIRA, L. M.; RODRIGUES, C. A.; CASTRO NETTO, A.; GUERREIRO, B. M.; SILVEIRA, C. R. A.; FREITAS, B. G.; BRAGANÇA, L. G. M.; MARQUES, K. N. G.; SÁ FILHO, M. F.; BÓ, G. A.; MAPLETOFT, R. J.; BARUSELLI, P. S. Efficacy of a single intramuscular injection of porcine FSH in hyaluronan prior to ovum pick-up in Holstein cattle. **Theriogenology**, v. 85, n. 5, p. 877–886, 2016.

VIEIRA, L. M.; RODRIGUES, C. A.; MENDANHA, M. F.; SÁ FILHO, M. F.; SALES, J. N. S.; SOUZA, A. H.; SANTOS, J. E. P.; BARUSELLI, P. S. Donor category and seasonal climate associated with embryo production and survival in multiple ovulation and embryo transfer programs in Holstein cattle. **Theriogenology**, v. 82, n. 2, p. 204–212, 2014a.

VIEIRA-NETO, A.; GALVÃO, K. N.; THATCHER, W. W.; SANTOS, E. P. Association among gestation length and health, production, and reproduction in Holstein cows and implications for their offspring. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 4, p. 3166–3181, 2017.

WALKER, C. G.; LITTLEJOHN, M. D.; MEIER, S.; ROCHE, J. R.; MITCHELL, M. D. DNA methylation is correlated with gene expression during early pregnancy in *Bos taurus*. **Physiological Genomics**, v. 45, n. 7, p. 276–286, 2013.

WALSH, S. W.; MOSSA, F.; BUTLER, S. T.; BERRY, D. P.; SCHEETZ, D.; JIMENEZ-KRASSEL, F.; TEMPELMAN, R. J.; CARTER, F.; LONERGAN, P.; EVANS, A. C. O.;

IRELAND, J. J. Heritability and impact of environmental effects during pregnancy on antral follicle count in cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 7, p. 4503–4511, 2014.

WALSH, S. W.; WILLIAMS, E. J.; EVANS, A. C. O. A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 123, n. 3–4, p. 127–138, 2011.

WATTIAUX MA. 1996. Technical dairy guide. **Reproduction and genetic selection. Babcock Institute for International Dairy Research and Development**, University of Wisconsin.

WIGHTMAN, W. P. D. Embryology, epigenetics and biogenetics. **Nature**, v. 177, 1956.

WILTBANK M.C, SOUZA AH, CARVALHO PD, BENDER RW, NASCIMENTO AB. Improving fertility to timed artificial insemination by manipulation of circulating progesterone concentrations in lactating dairy cattle. **Reprod Fertil Dev** 2012;24: 238 e 43.

WILTBANK, M. C.; BAEZ, G. M.; GARCIA-GUERRA, A.; TOLEDO, M. Z.; MONTEIRO, P. L. J.; MELO, L. F.; OCHOA, J. C.; SANTOS, J. E. P.; SARTORI, R. Pivotal periods for pregnancy loss during the first trimester of gestation in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v. 86, n. 1, p. 239–253, 2016.

WOOD C.E. 1999. Control of parturition in ruminants. **J. Reprod. Fertil.** 54(Suppl.):115-126.

ZANGIROLAMO, A. F.; DA SILVA, N. C.; MOROTTI, F.; SENEDA, M. M. The impact of sanity on the fertility of cows submitted to reproductive biotechnics. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, v. 15, n. 2, p. 91–98, 2017.

ZOETIS. **Clarifide Holandês Informativo técnico**, 2013.