

CENTRO UNIVERSITÁRIO CAMPO REAL
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MILENA HUMENHUK CEBULSKI

**AVALIAÇÃO DO CORPO LÚTEO ATRAVÉS DA ULTRASSONOGRAFIA EM
MODO B E EM MODO DOPPLER EM PROGRAMA DE TRANSFERÊNCIA DE
EMBRIÕES EM TEMPO FIXO**

GUARAPUAVA-PR

2024

MILENA HUMENHUK CEBULSKI

**AVALIAÇÃO DO CORPO LÚTEO ATRAVÉS DA ULTRASSONOGRAFIA EM
MODO B E EM MODO DOPPLER EM PROGRAMA DE TRANSFERÊNCIA DE
EMBRIÕES EM TEMPO FIXO**

**Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao curso de Medicina
Veterinária do Centro Universitário Campo
Real, como parte das exigências para a
conclusão do Curso de Graduação em
Medicina Veterinária.**

**Professor Orientador: Dr. Rodrigo
Dorneles Tortorella**

GUARAPUAVA- PR

2024

TERMO DE APROVAÇÃO

Centro Universitário Campo Real
Curso de Medicina Veterinária
Relatório Final de Estágio Supervisionado
Área de estágio: Reprodução bovina

AVALIAÇÃO DO CORPO LÚTEO ATRAVÉS DA ULTRASSONOGRAFIA EM MODO
B E EM MODO DOPPLER EM PROGRAMA DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES
EM TEMPO FIXO

Acadêmico: Milena Humenhuk Cebulski
Orientadora: Dr. Rodrigo Dorneles Tortorella
Supervisor: João Pedro Baleeiro de Paiva

O presente Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado e aprovado com nota _____(__, __) para obtenção de grau no Curso de Medicina Veterinária, pela seguinte banca examinadora:

Prof. Orientador: Dr. Rodrigo Dorneles Tortorella

Prof.(a):

Prof.(a):

Novembro de 2024
Guarapuava- PR

Dedico esse trabalho primeiramente a Deus, que me deu a vida e saúde para trilhar minha jornada, à minha mãe Juliana pelo apoio e esforço que me fizeram chegar aonde estou, ao meu namorado Dominik por toda a ajuda e apoio, e aos meus avós Sirlei e Irineu (in memoriam) que com amor, paciência e sabedoria me criaram e me ensinaram valores que carrego para toda a vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus por ter me concedido a vida e saúde para que eu pudesse chegar até aqui.

A minha mãe Juliana, pelas renúncias e dedicação que tornaram minha formação possível. Aos meus irmãos pelo apoio e incentivo.

A minha tia Jucélia, que nunca mediu esforços para me ajudar, sempre acreditando no meu sucesso.

Aos meus queridos avós, Sirlei e Irineu (*in memoriam*), que com amor e dedicação me criaram, transmitindo valores que moldaram quem sou hoje, mesmo não estando mais ao meu lado suas memórias continuam a iluminar meu caminho.

Agradeço profundamente a todos os meus familiares que sempre estiveram presentes, me incentivando e apoiando em cada etapa. Em especial aos meus avós paternos, Suderli e Jonas, que me transmitiram o amor pelos animais e sempre se fizeram presentes na minha vida.

Agradeço também ao meu namorado, Dominik, e a minha sogra Claudia, que me incentivaram a iniciar a faculdade de Medicina Veterinária e me ajudaram ao longo dessa jornada, sempre me apoiando.

A todos os meus amigos, por tornarem os momentos mais leves e me apoiarem incondicionalmente. Em especial ao meu grupo da faculdade, Ana Luiza, Diego, Heloyza e Isabela que compartilharam essa jornada comigo, juntos dividimos os desafios, tornando tudo mais divertido e significativo.

A Dona Reni, que me acolheu em sua casa durante o período de estágio obrigatório, onde eu chegava cansada e a comida já estava na mesa.

A todos os professores do Centro Universitário Campo Real por todo o conhecimento passado durante esses 5 anos, com especial gratidão ao meu professor e também orientador, Rodrigo, que me deu a oportunidade do primeiro estágio, foi minha inspiração na área da reprodução e me ensinou tanto.

A toda equipe Legado, que me deram a oportunidade de realizar o estágio final, obrigada pela confiança, paciência, apoio e conhecimento compartilhado. Um agradecimento especial ao Luiz, por me permitir acompanhar as avaliações com o Doppler e transmitir seu conhecimento.

A todos vocês, que fizeram parte dessa caminhada, minha eterna gratidão.

*“Você erra 100% dos tiros que não dá.”
- Wayne Gretzky*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Legado Consultoria Veterinária.	14
Figura 2. Protocolo de ressincronização precoce.	17
Figura 3. Exame de Tuberculose realizado pelo teste cervical comparativo.	18
Figura 4. Exame de Brucelose realizado pelo método do antígeno acidificado tamponado.	19
Figura 5. Omento exteriorizado da cavidade abdominal durante o procedimento de omentopexia.	20
Figura 6. Produção mundial de embriões bovinos nas últimas duas décadas.	31
Figura 7. Aparelho de ultrassom utilizado para avaliação das receptoras de embrião, modelo Easi-Scan:Go.	32
Figura 8. Imagens da ultrassonografia em modo color-Doppler com presença de CL em ovário de fêmeas bovinas receptoras em programa de TETF. As imagens 1, 2, 3 e 4 indicam, respectivamente corpos lúteos classificados como 1, 2, 3 e 4. A imagem 5 indica um CL cavitário e sem perfusão sanguínea, onde o animal seria descartado da TETF.	33
Figura 9. Protocolo hormona de sincronização das receptoras de embriões bovinos.	34
Figura 10. Materiais utilizados na TE.	35
Figura 11. Gráfico que indica a taxa de aproveitamento das receptoras utilizadas no dia da TETF.	35
Figura 12. Cisto ovariano observado em imagem ultrassonográfica no modo B convencional.	36
Figura 13. Gráfico que indica a incidência das diferentes classificações do CL pelo modo color-Doppler e pelo modo B em escala de cinza separado por grupos (Tabela 5).	37
Figura 14. Gráfico que indica a taxa de prenhez aos 30 dias em relação a avaliação em modo color-Doppler x modo B.	38
Figura 15. Gráfico que indica a taxa de prenhez aos 30 dias associada a classificação do CL.	39
Figura 16. Gráfico que indica a prevalência do corpo lúteo em relação ao ovário direito ou esquerdo.	42
Figura 17. Gráfico que indica a taxa de prenhez em relação ao lado do ovário.	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Atividades acompanhadas durante o estágio supervisionado em Medicina Veterinária no período de 29 de Julho a 01 de Novembro de 2024.....	15
Tabela 2. Manejos reprodutivos acompanhados em bovinos durante o estágio supervisionado em Medicina Veterinária no período de 29 de Julho a 01 de Novembro de 2024.....	16
Tabela 3. Manejos sanitários acompanhados em bovinos durante o estágio supervisionado em Medicina Veterinária no período de 29 de Julho a 01 de Novembro de 2024.....	17
Tabela 4. Cirurgias acompanhadas em bovinos durante o estágio supervisionado em Medicina Veterinária no período de 29 de Julho a 01 de Novembro de 2024.	19
Tabela 5. Avaliação do CL no modo color-Doppler e no modo B em escala de cinza separado em 4 grupos distintos.....	36

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AAT – Antígeno Acidificado Tamponado

ABIEC - Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes

bFGF – Fator de crescimento fibroblástico básico

BVD – Diarreia Viral Bovina

CESCAGE – Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais

CIV – Cultivo *in vitro*

CL – Corpo Lúteo

COCs – Complexos Cúmulus-Oócito

DEL – Dias Em Lactação

E2 – Estradiol 17- β

ECC – Escore de Condição Corporal

FD – Folículo Dominante

FIV – Fertilização *in vitro*

FSH – Hormônio Folículo-Estimulante

GnRH – Hormônio Liberador de Gonadotrofina

IA – Inseminação Artificial

IATF – Inseminação Artificial em Tempo Fixo

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IBR – Rinotraqueíte Infecciosa Bovina

IFN- τ – Interferon-tau

IMAC – Instituto Mato-Grossense da Carne

LH – Hormônio Luteinizante

MIV – Maturação *in vitro*

OPU – Ovum Pick-Up

P4 – Progesterona

PGF2 α – Prostagladina F2 α

PIVe – Produção *in vitro* de embriões

RESSINC – Protocolo de Ressincronização Precoce

SOV – Superovulação

TA – Tuberculina Aviária

TB – Tuberculina Bovina

TCC – Teste Cervical Comparativo

TE – Transferência de Embrião

TETF – Transferência de Embrião em Tempo Fixo

UNIFACVEST – Centro Universitário Unifacvest

UNIPINHAL – Centro Regional Universitário de Espírito Santo do Pinhal

US – Ultrassonografia

VEGF – Fator de crescimento endotelial vascular

RESUMO

O presente Trabalho de Conclusão de Curso mostra as atividades técnicas desenvolvidas do período de 29 de julho a 01 de novembro de 2024 na Legado Consultoria Veterinária, dentro da disciplina de Estágio Curricular Supervisionado do Centro Universitário Campo Real. As atividades foram desenvolvidas na Área de Reprodução bovina sob a orientação do professor Dr. Rodrigo Dorneles Tortorella e supervisão do médico veterinário João Pedro Baleeiro de Paiva. São contempladas nesse Trabalho de Conclusão de Curso as atividades realizadas no Estágio, além da descrição do escritório da Legado Consultoria Veterinária, a casuística acompanhada, descrição das atividades e revisão bibliográfica do tema abordado. Objetivou-se avaliar receptoras de embrião baseado no acompanhamento ultrassonográfico em modo B convencional e em modo color-Doppler comparando os resultados com a taxa de prenhez. A avaliação do corpo lúteo (CL) se torna indispensável em um programa de transferência de embrião (TE), o CL é uma glândula transitória formada após a ovulação, é responsável pela produção de progesterona, hormônio essencial para o sucesso de uma concepção e manutenção da gestação. Utilizou-se cinquenta e quatro (n=54) vacas holandesas receptoras previamente sincronizadas. No dia da inovulação dos embriões foi realizada a avaliação e classificação do CL por ultrassonografia em modo B e Doppler, os dados foram avaliados e comparados com a taxa de prenhez. A taxa de aproveitamento dos animais foi de 89,1% e 40,8% dos CL avaliados apresentaram divergência na classificação com os dois métodos de avaliação. Conclui-se que a avaliação no modo Doppler é mais eficaz para determinar a funcionalidade do CL, porém a intensidade do fluxo sanguíneo não apresentou correlação com a taxa de prenhez.

Palavras-chave: Bovinos. Doadora. Folículo. Receptora. Vascularização.

SUMÁRIO

1	APRESENTAÇÃO DA EMPRESA E PERÍODO DE ESTÁGIO	14
1.1	DESCRIÇÃO DO LOCAL DO ESTÁGIO	14
2	ATIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE O ESTÁGIO	15
2.1	DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES	15
2.2	CASUÍSTICA.....	15
2.2.1	Manejo Reprodutivo.....	16
2.2.2	Manejo Sanitário	17
2.2.3	Clínica Cirúrgica.....	19
3	REFERENCIAL TEÓRICO	22
3.1	INTRODUÇÃO	22
3.2	O CICLO ESTRAL DA FÊMEA BOVINA.....	23
3.3	DINÂMICA FOLICULAR	25
3.4	O CORPO LÚTEO.....	26
3.5	A ULTRASSONOGRAFIA EM MODO B E EM MODO COLOR-DOPPLER.....	28
3.6	TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES	29
4	MATERIAIS E MÉTODOS	32
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	43
7	REFERÊNCIAS	43

CAPÍTULO I – DESCRIÇÃO DO ESTÁGIO

1 APRESENTAÇÃO DA EMPRESA E PERÍODO DE ESTÁGIO

1.1 DESCRIÇÃO DO LOCAL DO ESTÁGIO

O estágio Curricular foi realizado na Legado Consultoria Veterinária, durante o período de 29 de julho a 01 de novembro de 2024, com carga horária semanal de 30 horas, totalizando 360 horas obrigatórias.

A empresa foi fundada em fevereiro de 2020. Situa-se na rua Avenida dos Pioneiros, nº 1600, bairro Colônia na cidade de Carambeí-PR (Figura 1). Seu horário de funcionamento é de segunda a sexta-feira das 8h00min às 18h00min e durante este período é realizado o atendimento a campo nas fazendas.

O atendimento é feito para grandes animais, especificamente bovinos, em serviços de reprodução, clínica, cirurgias em geral e manejo sanitário. A empresa conta com 4 médicos veterinários, sendo eles, o médico veterinário, supervisor de estágio e sócio-administrador João Pedro Baleeiro de Paiva, formado pela CESCAGE em Ponta Grossa – PR, o médico veterinário e também sócio-administrador Matheus Baylão, formado pela UniPinhal, o médico veterinário Marco Vinicius Ribeiro, formado pela CESCAGE e o médico veterinário Isaac Ferraz Duarte formado pela Unifacvest.

Figura 1. Legado Consultoria Veterinária.



Fonte: Autora (2024).

2 ATIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE O ESTÁGIO

2.1 DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES

Durante o período de estágio realizado na Legado Consultoria Veterinária foram acompanhadas as atividades na área de reprodução de bovinos, clínica cirúrgica e manejo sanitário, sempre sob a supervisão dos médicos veterinários.

As atividades do estagiário eram o acompanhamento dos manejos: ultrassonografia (US), protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) e ressincronização precoce (RESSINC), aspiração folicular, avaliação de receptoras para programas de transferência de embriões em tempo fixo (TETF) e transferência de embriões (TE), sendo possível realizar a anestesia epidural, aplicação de hormônios e vacinas, palpação retal e montagem dos instrumentos necessários, além de auxiliar no manejo dos animais.

2.2 CASUÍSTICA

Durante o período de 29 de julho a 01 de novembro de 2024 na Legado Consultoria Veterinária foram acompanhadas 9744 atividades na área da bovinocultura de corte e leite. Essas atividades foram classificadas em manejo reprodutivo, manejo sanitário e clínica cirúrgica.

Tabela 1. Atividades acompanhadas durante o estágio supervisionado em Medicina Veterinária no período de 29 de Julho a 01 de Novembro de 2024.

Atividades	Frequência	%
Manejo reprodutivo	7808	80,13
Manejo sanitário	1932	19,82
Clínica cirúrgica	4	0,05
Total	9744	100,00

Fonte: Autora (2024).

2.2.1 MANEJO REPRODUTIVO

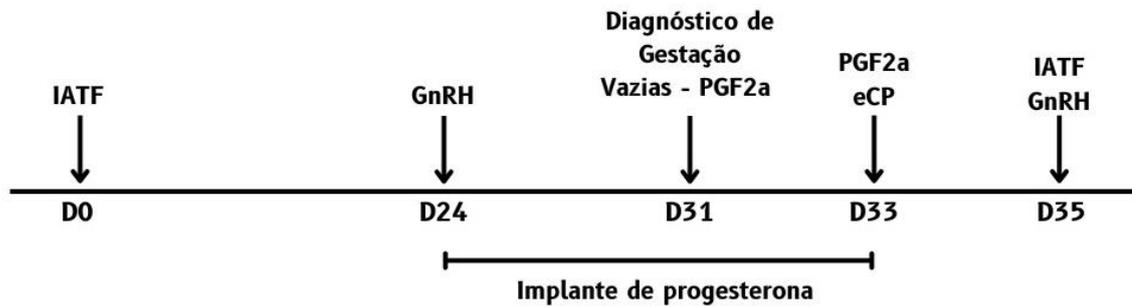
As atividades acompanhadas e/ou realizadas dentro do manejo reprodutivo, estão descritas na tabela 2.

Tabela 2. Manejos reprodutivos acompanhados em bovinos durante o estágio supervisionado em Medicina Veterinária no período de 29 de Julho à 01 de Novembro de 2024.

Procedimentos realizados	Frequência	%
Ultrassonografia para diagnóstico de gestação	3163	40,51
Transferência de embrião	1183	15,15
Protocolos de IATF	1092	14,00
Vacinas reprodutivas	715	9,16
Protocolos de Ressincronização Precoce	707	9,05
Aspiração folicular	418	5,35
Indução de puberdade	352	4,51
Avaliação de receptoras no modo B	113	1,44
Avaliação de receptoras no modo Doppler	65	0,83
Total	7808	100,00

Fonte: Autora (2024).

Dentre as atividades desenvolvidas dentro do manejo reprodutivo, o protocolo de ressincronização precoce constituiu 9,05% das atividades. O protocolo é realizado em propriedades leiteiras onde é feito o acompanhamento reprodutivo semanalmente. Ele é constituído pela aplicação do dispositivo intravaginal de liberação lenta de progesterona e pela aplicação intramuscular de análogos sintéticos do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), eram utilizados o acetato de buserelina, lecirelina ou gonadorelina acetato, o princípio ativo e a empresa do hormônio varia e é de escolha do cliente. O protocolo é realizado 24 dias após a IATF, sem saber da condição gestacional da fêmea, com a finalidade de adiantar o próximo protocolo IATF. Após 7 dias, é realizado a ultrassonografia para diagnóstico de gestação, caso a fêmea esteja prenha só é realizado a retirada do implante de progesterona, caso a fêmea esteja vazia é dado sequência ao protocolo IATF (Figura 2).

Figura 2. Protocolo de ressincronização precoce.

Fonte: Autora (2024).

2.2.2 MANEJO SANITÁRIO

As atividades acompanhadas e/ou realizadas dentro do manejo sanitário, estão descritas na tabela 3.

Tabela 3. Manejos sanitários acompanhados em bovinos durante o estágio supervisionado em Medicina Veterinária no período de 29 de Julho à 01 de Novembro de 2024.

Atividades	Frequência	%
Exame de Tuberculose TCC	786	40,68
Vacina contra Brucelose RB51	650	33,64
Exame de Brucelose	496	25,68
Total	1932	100,00

Fonte: Autora (2024).

O exame de tuberculose foi realizado nas vacas, novilhas e bezerras com idade mínima de seis semanas, o exame foi realizado pelo teste cervical comparativo (TCC) (Figura 3) em 786 animais. Para a realização do teste primeiro é realizado a tricotomia em dois pontos na região da espinha da escápula, com cerca de 15 a 20 cm de distância um do outro, em seguida é feita a medição da espessura da dobra da pele com o auxílio de um cutímetro, com uma seringa especial para tuberculinização é realizado a inoculação da tuberculina aviária (TA) em um ponto e em outro ponto a inoculação da tuberculina bovina (TB). Após 72 horas é realizada nova medição da espessura da dobra cutânea nos dois pontos. Para a leitura do teste é considerado a diferença entre a subtração da medida realizada 72 horas após a tuberculinização e a

primeira medida realizada antes da tuberculinização. São considerados animais positivos aqueles que apresentam diferença das medidas de TB ≥ 4 mm que a TA e que apresentam o local com reação quente, dolorosa, com exsudato ou necrose. São considerados animais suspeitos aqueles que apresentarem diferença de medidas de TB maior que TA de 2,1 a 3,9 mm.

Figura 3. Exame de Tuberculose realizado pelo teste cervical comparativo.



Fonte: Autora (2024).

Já o exame de brucelose foi realizado apenas nas vacas com idade mínima de 24 meses, pelo método do antígeno acidificado tamponado (AAT) (Figura 4), foi coletado sangue de 496 animais através da veia coccígea com o auxílio de uma agulha e tubo com ativador de coágulo para coleta de sangue a vácuo, foi utilizado uma agulha e um tubo por animal. Após 48 horas com o sangue já coagulado, em uma placa de vidro específica são adicionados com auxílio de uma micropipeta automática a mesma quantidade de soro e de AAT, misturando-os com o auxílio de uma espátula, em seguida é feita a homogeneização da mistura agitando a placa por 4 minutos. A leitura é feita sobre uma caixa com luz analisando a aglutinação, animais negativos não apresentam aglutinação na gota, já animais positivos apresentam aglutinação, que se apresenta como uma areia grossa, nesse caso é feita a marca na face com “P” do lado direito e em seguida o abate deve ser realizado em até 30 dias.

Figura 4. Exame de Brucelose realizado pelo método do antígeno acidificado tamponado.



Fonte: Autora (2024).

2.2.3 CLÍNICA CIRÚRGICA

As atividades acompanhadas e/ou realizadas dentro da clínica cirúrgicas, estão descritas na tabela 4.

Tabela 4. Cirurgias acompanhadas em bovinos durante o estágio supervisionado em Medicina Veterinária no período de 29 de Julho à 01 de Novembro de 2024.

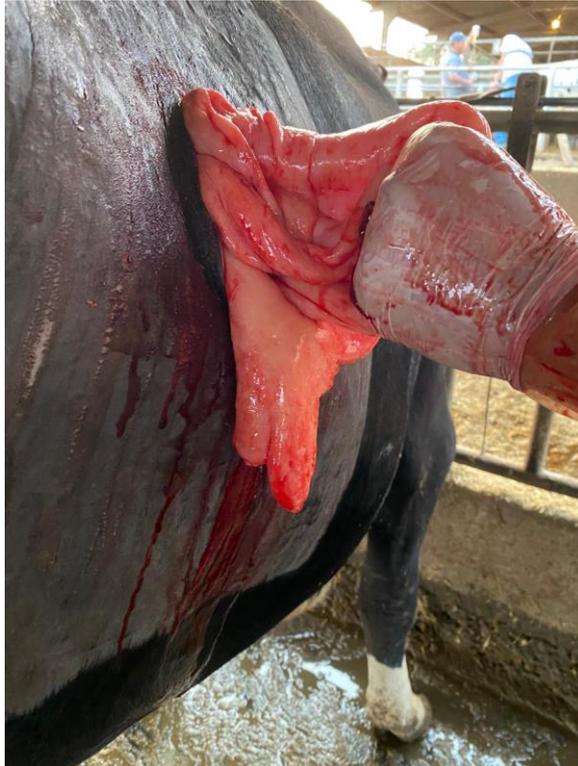
Atividades	Frequência	%
Omentopexia	3	75,00
Descorna cirúrgica	1	25,00
Total	4	100,00

Fonte: Autora (2024).

Dentre as atividades acompanhadas dentro da clínica cirúrgica a omentopexia (Figura 5) constituiu 75% das atividades. A omentopexia é um procedimento cirúrgico realizado para evitar a recorrência de deslocamento de abomaso. O procedimento foi realizado em uma vaca da raça holandesa que apresentou deslocamento de abomaso

à esquerda. Com o animal em estação foi realizado a tricotomia, antissepsia e anestesia local do flanco direito e em seguida realizado a incisão. O abomaso é localizado pelo Médico Veterinário e esvaziado com o auxílio de uma agulha acoplada a um dreno, o abomaso é recolocado em sua posição normal, em seguida é feita a fixação do omento na musculatura da parede abdominal, por fim é realizada a sutura do peritônio, musculatura abdominal e pele.

Figura 5. Omento exteriorizado da cavidade abdominal durante o procedimento de omentopexia.



Fonte: Autora (2024).

CAPÍTULO II – DESCRIÇÃO TEÓRICA
AVALIAÇÃO DO CORPO LÚTEO ATRAVÉS DA ULTRASSONOGRAFIA EM
MODO B E EM MODO DOPPLER EM PROGRAMA DE TRANSFERÊNCIA DE
EMBRIÕES EM TEMPO FIXO

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 INTRODUÇÃO

A pecuária é uma atividade de extrema importância para o Brasil, é um dos setores mais marcantes do agronegócio nacional e um dos pilares fundamentais de sua economia, além disso o setor é responsável por gerar milhares de empregos, renda e contribuir com a economia nacional (IMAC, 2023). O Brasil é o maior exportador de carne do mundo, segundo a Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes (ABIEC), em setembro de 2024 as exportações brasileiras atingiram 286.750 toneladas, com faturamento de US\$ 1,258 bilhão.

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) (2023), o Brasil possui pouco mais de 238 milhões de cabeças de gado, sendo a região Sul do país responsável por 10,6%, com pouco mais de 25 milhões de cabeças de gado, dentre os estados da região, o Paraná constitui 34,6% do rebanho. Já na pecuária leiteira o Brasil produziu em 2023 mais de 35 bilhões de litros de leite, em liderança a região Sul, responsável por 33,6% da produção brasileira, o Paraná é o maior produtor da região, responsável por produzir 38,4% do leite do estado.

A aplicação e o avanço das biotécnicas da reprodução animal são indispensáveis para o aumento da eficiência reprodutiva, nesse contexto, principalmente em ruminantes domésticos, as biotécnicas como a inseminação artificial, fertilização *in vitro* e a transferência de embriões vêm sendo implementadas com sucesso (Figueiredo *et al.*, 2007).

A transferência de embriões é uma biotecnologia disseminada mundialmente, tem como principal objetivo a produção de um número elevado de descendentes geneticamente superiores por fêmea, contrariamente aos resultados alcançados fisiologicamente durante sua vida reprodutiva (Pasa, 2008), a técnica também possibilita a evolução no sistema de produção em um tempo reduzido, geração em escalas industriais, expansão dos lucros frente a uma cadeia produtiva e otimização de recursos (Barusseli *et al.*, 2008).

O objetivo desse trabalho foi avaliar receptoras utilizadas em programa de Transferência de Embrião em Tempo Fixo (TETF) no dia da inovulação dos embriões utilizando duas tecnologias de imagem ultrassonográficas e comparar com as taxas de prenhez.

3.2 O CICLO ESTRAL DA FÊMEA BOVINA

O ciclo estral das fêmeas bovinas é controlado pelo eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, podendo variar de acordo com a sua origem (zebuína ou taurina) e de sua categoria (novilha pré púbere, novilha pós-puberdade, vaca lactante ou não lactante, fêmeas prenhes ou vazias) (Luz; Celeghini; Brandão, 2023). Ball e Peters (2006), descrevem que o momento em que o animal entra na puberdade ocorre a primeira ovulação e primeiro estro, porém esse momento é muito variável, dependendo de fatores ambientais e genéticos como peso e raça.

Um ciclo estral compreende o intervalo de um estro ao outro, ele é composto por quatro fases, sendo elas: proestro, estro, metaestro e diestro (Mies Filho, 1987), as fêmeas bovinas são consideradas poliéstricas não sazonais e uma vaca que possui ciclos regulares apresenta um ciclo com média 21 dias (Benites; Baruselli, 2011). Mecanismos endócrinos e neuroendócrinos controlam o ciclo estral, governado principalmente pelos hormônios hipotalâmicos, as gonadotrofinas e esteroides secretados pelos ovários (Hafez; Hafez, 2004).

O ciclo estral pode ser dividido em fase folicular e fase luteal, a fase folicular engloba o proestro e estro, estando essa fase sob influência do hormônio estrógeno, a fase luteal é regida pela progesterona e engloba o metaestro e diestro (Ball; Peters, 2006).

O proestro dura em média 2 a 3 dias, é marcado pelo decréscimo de progesterona (P4) e ascensão de estradiol 17- β (E2), isso ocorre devido ao desenvolvimento folicular causado pela intensa liberação de GnRH e gonadotrofinas, associado a luteólise. No exame clínico observa-se a vulva pouco edemaciada, vestíbulo avermelhado e pouca secreção mucosa, já através da palpação retal detecta-se um útero com boa contratilidade, presença de folículos com 15 a 20 mm de diâmetro nos ovários e corpo lúteo (CL) firme, mas em regressão, com cerca de 10 a 20 mm (Dirksen; Gründer; Stöber, 1993; Grunert *et al.*, 2005).

A fase do estro dura cerca de 12 horas, podendo oscilar entre 1 a 24 horas, vários fatores influenciam nessa oscilação, a raça é um deles, animais de origem zebuína possuem ciclos mais curtos do que animais de origem europeia. A fase é marcada por um folículo pré-ovulatório presente no ovário, com alta produção de E2, e ausência de CL funcional, é nessa fase que a fêmea aceita a cópula. As fêmeas em estro demonstram postura submissa para serem montadas pelo touro ou por outras

vacas, também apresentam atividade aumentada, mugido contínuo, vulva edemaciada, vestíbulo e vagina apresentando mucosa hiperêmica, muco vaginal de cor clara, já na palpação retal identifica-se um útero intensamente contraído e a presença de folículos no ovário com até 25 mm de diâmetro (Dirksen; Gründer; Stöber, 1993; Ball; Peters, 2006; Thompson, 2006; Luz; Celeghini; Brandão, 2023).

Na fase do metaestro as concentrações circulantes de E2 decrescem e aumenta gradualmente a P4, essa fase tem duração média de 2 a 3 dias, nela há o rompimento do folículo e extravasamento do conteúdo folicular e do oócito, a ovulação, que acontece cerca de 12 horas após o final do cio, o folículo rompido passa por uma reorganização tecidual e reconstrução vascular tornando-se um corpo hemorrágico, que irá se tornar um corpo lúteo. A fêmea passa a não aceitar mais a monta, alguns animais podem apresentar muco sanguinolento, denominado hemorragia do metaestro, na avaliação por palpação retal o útero apresenta pouca contratilidade e o ovário possui um CL macio e pequeno, que na maioria das vezes não é detectado pela palpação (Dirksen; Gründer; Stöber, 1993; Grunert *et al.*, 2005; Luz; Celeghini; Brandão, 2023).

A fase de diestro é a maior fase do ciclo estral, possui uma duração de cerca de 14 dias, nessa fase existe a presença de um CL em intensa atividade, que atinge seu máximo desenvolvimento estrutural e funcional sendo capaz de produzir altas concentrações de P4. No exame clínico observa-se a mucosa vestibular e vaginal na coloração rosa pálido e com pouca umidade, cérvix mostra-se fechada pela formação de um tampão mucoso, na palpação retal o útero apresenta baixa contratilidade e já é possível detectar o corpo lúteo, que pode chegar a 30 mm de diâmetro, ao final da fase também é possível sentir folículos ovarianos em estágio inicial, medindo até 14 mm (Grunert *et al.*, 2005; Benites; Baruselli, 2011; Luz; Celeghini; Brandão, 2023). O final da fase pode seguir dois caminhos distintos: um novo ciclo estral ou início de uma gestação. Ball e Peters (2006) detalham que ao final do diestro as concentrações de P4 declinam devido a luteólise, que é estimulada pela prostaglandina F₂α (PGF₂α), circunstância que leva ao início de um novo ciclo estral, ou caso haja concepção, a lise do CL é bloqueada e a gestação avança.

Diversos fatores podem alterar a dinâmica do ciclo estral fazendo com que a fêmea entre em anestro, ou seja, ausência de comportamento estral em um período de tempo esperado e perdura do parto até o primeiro cio fértil, o anestro pode ser indicado como a causa mais frequente de infertilidade nos bovinos. O anestro pós-

parto é um intervalo de tempo em que o eixo hipotalâmico-hipofisário-ovário-uterino se reabilita de uma prenhez e é considerado fisiologicamente normal logo após o parto, caso não ultrapasse o tempo esperado de 40 a 60 dias, que é o período de recuperação da capacidade reprodutiva (Bó; Cutaia; Reis, 2004).

A ocorrência e duração do anestro é influenciada por diversos fatores como idade, raça, genética, fatores ambientais, amamentação, estado nutricional, estação de parição e número de crias, onde, as vacas primíparas são as mais prejudicadas. Vacas de corte reiniciam a atividade cíclica entre 30 a 110 dias pós parto enquanto nas vacas de leite a ciclicidade retorna cerca de 2 a 3 semanas pós parto, de forma geral o anestro é maior em vacas com terneiro ao pé, com deficiência nutricional e nas múltíparas mais velhas com quatro ou mais partos (De Castro, 2002; Bó; Cutaia; Reis, 2004; Gregory; Rocha, 2004).

3.3 DINÂMICA FOLICULAR

Ao decorrer de cada ciclo estral há um processo dinâmico de desenvolvimento folicular, onde os folículos antrais crescem e ovulam (onda ovulatória), ou crescem e sofrem atresia (onda anovulatória), esse processo é denominado de onda folicular. Uma onda de crescimento folicular é composta por três fases. A primeira fase de recrutamento compreende no crescimento de vários folículos antrais, com média de 2 a 4 mm, ocasionado pelo hormônio folículo estimulante (FSH), esses folículos irão crescer uniformemente por aproximadamente 3 dias (Aerts; Bols, 2010; Luz; Celeghini; Brandão, 2023).

A segunda fase é a fase de seleção e dominância, onde um folículo se desenvolve mais que os outros e se torna dominante, a presença desse folículo dominante (FD) inibe o crescimento do restante dos folículos, o FD é responsável por produzir grandes quantidades de estrógeno (17β estradiol). O crescimento folicular nessa fase necessita do FSH e de pulsos basais do hormônio luteinizante (LH). A terceira fase é quando ocorre o rompimento do FD, a ovulação, ela é provocada pelo pico do LH liberado pela hipófise, porém ela só acontece se no instante em que o FD estiver produzindo grande concentração de estrógeno, não hajam altos níveis de progesterona. Todos os folículos que não ovularem, inclusive os folículos dominantes,

sofrem atresia, que consiste no processo de degeneração da estrutura (Ginther; Knopf; Kastelic, 1989; Aerts; Bols, 2010).

Durante a fase luteal do ciclo estral (metaestro e diestro), quando há a presença de um CL funcional, não há ovulação, pois a frequência de pulsos do LH é incapaz de estimular a diferenciação final e rompimento do FD, levando o FD à perda da dominância e início de uma nova onda de crescimento folicular. Já na fase folicular do ciclo estral (proestro e estro), com a ausência de progesterona, a liberação de LH aumenta estimulando o FD a liberar quantidades crescentes de estrógeno, induzindo mudanças comportamentais ligadas ao estro e também causa a liberação de um pico pré-ovulatório de GnRH e LH, que leva a ovulação do FD (Binelli *et al.*, 2001).

Luz; Celeghini; Brandão (2023) descrevem também que as ondas foliculares podem variar de uma a quatro por ciclo, ocorrendo com maior frequência três ondas por ciclo, vacas leiteiras de alta produção que ingerem grandes quantidades de matéria seca e energia podem apresentar duas ondas foliculares por ciclo, isto se deve ao maior fluxo sanguíneo e metabolização hepática que aumenta a catabolização de progesterona e estradiol, aumentando a durabilidade de cada onda folicular, conseqüentemente diminui o número de ondas foliculares por ciclo estral.

3.4 O CORPO LÚTEO

O corpo lúteo é uma glândula endócrina transitória que se forma no local da ovulação, quando o folículo dominante atinge seu crescimento final e se torna um folículo de Graaf maduro com capacidade ovulatória, ele rompe e libera o oócito, após isso ele se destrói, e nesse local inicia-se o preenchimento da cavidade com células luteínicas formando o corpo lúteo. O CL é responsável pela produção do hormônio esteroide progesterona, indispensável para o controle do ciclo estral, ele age no comportamento sexual da fêmea, deixando-a não receptiva ao macho e também prepara o ambiente uterino para o possível recebimento do embrião e manutenção da gestação (Ginther, 1992; Viana *et al.*, 1999; Hafez; Hafez, 2004).

A luteogênese inicia-se logo após o processo ovulatório, a região que era ocupada pelo FD é tomada por fibroblastos, células do sistema imune, células musculares lisas, células endoteliais, células da teca interna e células da granulosa, que passam por hiperplasia e/ou hipertrofia, formando inicialmente o corpo

hemorrágico, estrutura que passa por uma reorganização e se torna o corpo lúteo (Diaz *et al.*, 2002; Sangha *et al.*, 2002; Webb *et al.*, 2002; Bertan, 2004).

A angiogênese é essencial na formação e manutenção do CL, ela garante a nutrição e as trocas respiratórias no tecido luteal, o que é essencial para a viabilidade do CL e seu bom desempenho, o processo de formação de capilares sanguíneos depende de um complexo balanço entre fatores estimuladores e inibidores (Berisha; Schams, 2005). Estão envolvidos no processo, o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e o fator de crescimento fibroblástico básico (bFGF), que são responsáveis pelo desenvolvimento e manutenção de uma rede densa de capilares neoformados, além disso, os fatores VEGF e bFGF também contribuem de forma parácrina e autócrina na produção de progesterona (Acosta; Miyamoto, 2004; Berisha *et al.*, 2015).

Dentre as 4 fases que compõem o ciclo estral, é na fase de diestro que encontramos um corpo lúteo funcional, ele permanece no ovário em média 17 a 18 dias em fêmeas bovinas ciclando. Quando a fêmea se torna prenhe o CL permanece no ovário até em média 5 dias antes do parto, sua avaliação e do seu fluxo sanguíneo se torna muito importante, pois uma função luteal adequada é fundamental para o reconhecimento materno-fetal e para o estabelecimento da prenhez (Luz; Celeghini; Brandão, 2023).

Cerca de cinco a sete dias após a sua formação, o CL se torna maduro e produz progesterona com capacidade máxima e enquanto a progesterona se manter alta na circulação sanguínea, a liberação de GnRH e gonadotrofinas é reduzida, conseqüentemente não há liberação de LH com frequência e amplitude ideais para a fêmea entrar no cio e ovular (Rocha, 2017).

As interações entre a progesterona, o interferon-tau (IFN- τ) e a prostaglandina controlam a expressão gênica associada à implantação e o alongamento do embrião, preparando o epitélio endometrial para a liberação de substâncias essenciais e ambiente uterino para a formação e desenvolvimento do embrião (Spencer; Forde; Lonergan, 2015). Fêmeas com níveis plasmáticos de progesterona abaixo de 1 ng/mL apresentam funcionalidade luteal comprometida, dessa forma, um funcionamento adequado do CL é um fator decisivo na fertilidade e no sucesso da gestação (Vrisman *et al.*, 2017).

A luteólise é provocada através de sinais produzidos no endométrio que irão causar a secreção de 4 a 8 pulsos de PGF 2α durante 6 a 14 horas, isso ocorre por

conta da falta de um embrião ou por qualquer falha no processo de reconhecimento materno da gestação (Trevisol *et al.*, 2015). O processo de luteólise pode ser definido como funcional ou estrutural. A luteólise funcional é marcada pela queda marcante de P4, já na luteólise estrutural há um processo de degradação das células esteroidogênicas e do endotélio vascular, além da queda na irrigação do CL (Miyamoto *et al.*, 2005; Garcia, 2015).

Ficando atrás apenas do cérebro, o CL é uma estrutura que possui uma das maiores redes de vasos sanguíneos do organismo, devido ao seu elevado consumo de oxigênio por grama de tecido. Através da ultrassonografia Doppler é possível avaliar estes vasos, mensurando o fluxo sanguíneo do CL, permitindo assim realizar uma análise funcional do CL, além da análise morfológica que é realizada tradicionalmente (Luz; Celeghini; Brandão, 2023). Através do CL é possível adequar protocolos de manipulação e sincronização do ciclo estral e através da sua avaliação é possível obter informações relevantes sobre o estado reprodutivo das fêmeas (Viana *et al.*, 1999).

3.5 A ULTRASSONOGRAFIA EM MODO B E EM MODO COLOR-DOPPLER

O uso da ultrassonografia em grandes animais iniciou-se na década de 1980 para exame do trato reprodutivo das fêmeas equinas e bovinas, tornando-se uma ferramenta essencial de estudo (Ginther; Rakesh; Hoffman, 2014). No decorrer do tempo o uso da ultrassonografia se expandiu consideravelmente, resultando em grandes melhorias no diagnóstico clínico e na eficiência reprodutiva dos rebanhos bovinos (Pugliesi *et al.*, 2017).

O exame ultrassonográfico possui alta importância na rotina clínica e das biotécnicas reprodutivas, pois permite que o Médico Veterinário visualize as alterações do trato reprodutivo das fêmeas nas diferentes fases do ciclo estral, em nível tanto uterino quanto ovariano, como o acompanhamento da dinâmica ovariana, mensuração do diâmetro dos folículos, avaliação do corpo lúteo e determinação do momento da ovulação, essas avaliações possibilitaram o desenvolvimento e a adequação de protocolos hormonais utilizados em programas de IATF, TE e resincronização (Gasperin *et al.*, 2017).

Segundo Pugliesi *et al.* (2017), dentre os modos disponíveis em equipamentos de ultrassom, a ultrassonografia no modo brilho (B; escala de cinza), é a mais utilizada e ela proporciona uma imagem bidimensional dos órgãos e tecidos avaliados, logo a utilização rotineira da ultrassonografia em modo B nas últimas décadas permitiu melhor avaliação das matrizes para programas de Inseminação Artificial em Tempo Fixo e da qualidade das receptoras em programas de Transferência de Embriões em Tempo Fixo.

O uso da ultrassonografia Doppler é relativamente atual na Medicina Veterinária, os primeiros relatos em animais domésticos datam dos anos 70 (Helper, 1970), é uma técnica não invasiva, em tempo real e vem sendo utilizado para seleção de receptoras, diagnóstico precoce da gestação em protocolos de IATF e TETF, avaliação do sistema reprodutivo das fêmeas bovinas e avaliação da funcionalidade do corpo lúteo (Pugliesi *et al.*, 2017).

A ultrassonografia Doppler possibilita a avaliação detalhada da hemodinâmica uterina, folicular e luteal, ela funciona pela diferença da frequência das ondas refletidas pela circulação sanguínea e a frequência emitida pelo transdutor, no modo color-Doppler. A diferença dessas frequências é sinalizada por cores sobre a imagem em modo B convencional. Quando o fluxo sanguíneo vai em direção ao transdutor é manifestado em tons de vermelho a amarelo, já quando o fluxo sanguíneo vai contra a direção do transdutor as cores manifestadas são em tons de azul a verde (Luz, Celeghini e Brandão, 2023).

3.6 TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES

A transferência de embriões teve início em 1890, quando Heape realizou com sucesso a primeira transferência em coelhos, a comercialização da técnica iniciou-se na década de 1970 na América do Norte, já na bovinocultura em 1950 foi registrado o primeiro bovino gerado por transferência de embrião (Luz; Celeghini; Brandão, 2023), em 1973 o primeiro nascimento de um bezerro produzido com embrião congelado e em 1982 o nascimento de um bezerro após fertilização *in vitro* (FIV) (Hafez; Hafez, 2004).

Além de intensificar a seleção genética, o avanço das técnicas de ovulação múltipla e transferência de embriões permitiu aumentar os índices reprodutivos em

fêmeas bovinas, reduzir o intervalo entre gerações, ampliar a oferta de animais para reposição (Penna, 1993) e aumentar o número de descendentes de uma fêmea de alta qualidade genética em um intervalo curto de tempo (Fernandes, 1994).

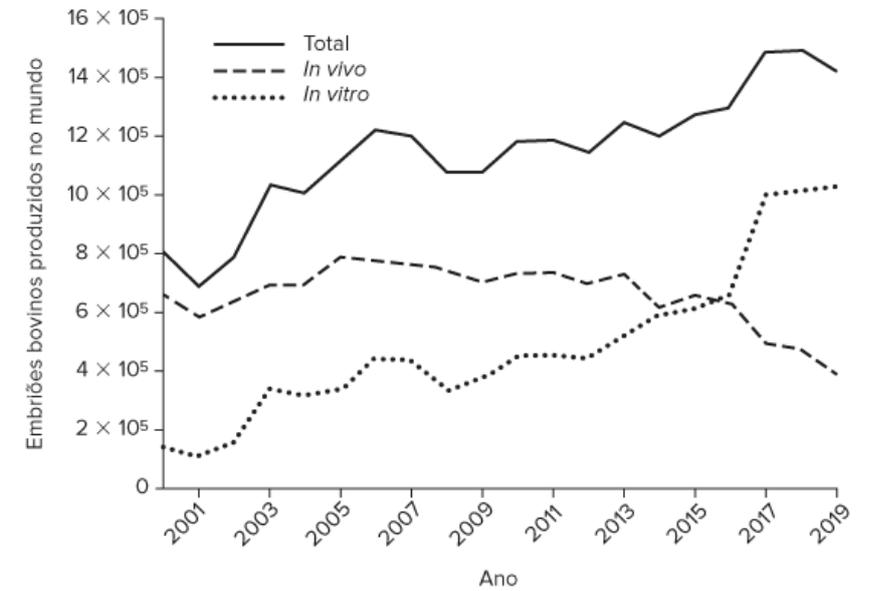
O termo transferência de embrião consiste na técnica na qual embriões bovinos, coletados *in vivo* ou produzidos *in vitro*, são depositados no útero de uma fêmea receptora, chamado também de inovulação. Tecnicamente ele não define a origem do embrião, porém como a superovulação (SOV) foi a primeira técnica usada em nível comercial para a obtenção de embriões bovinos, durante um certo tempo, os termos TE e SOV foram usados como sinônimos, como pode-se observar nas publicações mais antigas, mas conforme o crescimento comercial da produção *in vitro* de embriões, o termo TE passou a ser aplicado apenas para referenciar a inovulação do embrião, independentemente de sua origem (Luz; Celeghini; Brandão, 2023).

A transferência de embrião convencional consiste na estimulação da produção de oócitos através do emprego de hormônios para superovulação de uma fêmea doadora (Barros *et al.*, 2007), a qual é submetida ao acasalamento ou inseminação artificial e então seus embriões são coletados através da lavagem uterina com soluções fisiológicas, em sequência é realizado a transferência das estruturas embrionárias para as fêmeas receptoras, que ficam encarregadas de manter a gestação até o parto (Silva, 2020).

Logo no início do uso comercial da fertilização *in vitro* (FIV), 2000 a 2005, notou-se um grande crescimento na atividade, isso foi associado à demanda reprimida por embriões bovinos, instigada pela necessidade de melhoramento dos rebanhos comerciais e pela mudança no mercado de genética. Em 2011, o crescimento total de embriões produzidos afirmou que, a FIV além de substituir a TE como técnica de escolha para a produção de embriões também possibilitou a expansão do mercado, isso porque a FIV otimiza a produção de embriões por doadora, tem efeitos positivos na escala de uso e possui um custo reduzido (Viana, 2012).

O mercado da transferência de embriões vem crescendo no mundo todo, nos últimos 20 anos o uso comercial de embriões produzidos em laboratório expandiu consideravelmente, na área animal, mais de 20 milhões de embriões bovinos foram produzidos nesse período (Figura 6) (Luz; Celeghini; Brandão, 2023).

Figura 6. Produção mundial de embriões bovinos nas últimas duas décadas.



Fonte: Luz; Celeghini; Brandão (2023).

No Brasil a produção *in vitro* de embriões (PIVe) teve início no ano de 1998 e trata-se de uma técnica assistida que envolve a preparação e cultivo dos gametas em laboratório para a formação do zigoto e seu cultivo até o estágio almejado para sua transferência, a técnica envolve diversas etapas, realizadas a campo e no laboratório, desde a aspiração folicular transvaginal guiada por ultrassom (OPU – Ovum Pick-Up) até o momento da transferência de embrião (Bueno; Beltran, 2008; Guarda, 2023).

A PIVE é constituída por 3 etapas, tendo início pela recuperação dos complexos cúmulus-oócito (COCs) imaturos dos folículos do ovário, que após a sua recuperação passam para a segunda etapa de maturação *in vitro* (MIV), durante esse processo ocorrem várias transformações nucleares e citoplasmáticas até que atinjam a maturidade. A próxima etapa é a FIV, onde os oócitos são co-cultivados junto com os espermatozoides para que aconteça a fecundação, esse processo acontece pela incubação dos oócitos maturados e de espermatozoides capacitados em meio apropriado. Depois dessa etapa os zigotos passam pelo cultivo *in vitro* (CIV), onde são cultivados até o estágio de blastocisto, cerca de 7 dias, quando já estão aptos a serem transferidos em receptoras sincronizadas ou para serem criopreservados (Rizos *et al.*, 2008).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Utilizaram-se cinquenta e quatro vacas da raça Holandesa, receptoras de embriões, com idade entre 2 a 8 anos, com alimentação a base de silagem, fornecimento de água à vontade, produção média de 60 litros de leite por dia, DEL (Dias em Lactação) médio de 320 dias, criadas em sistema de confinamento free stall. Todas as fêmeas utilizadas apresentavam-se híginas e com bom escore de condição corporal (ECC de $3 \pm 0,5$, escala de 1-5), livres de Brucelose e Tuberculose e imunizadas contra IBR, BVD e leptospirose.

Os animais são pertencentes a fazenda Frank'Anna Agropecuária, localizada no município de Carambeí, estado do Paraná, onde esses animais foram submetidos a avaliação do corpo lúteo através da ultrassonografia transretal em modo B e em modo color-Doppler com o auxílio do ultrassom Easi-Scan:Go (Figura 7), a avaliação foi realizada no período da manhã no mesmo dia da inovulação dos embriões, que foi realizado no período da tarde.

Figura 7. Aparelho de ultrassom utilizado para avaliação das receptoras de embrião, modelo Easi-Scan:Go.



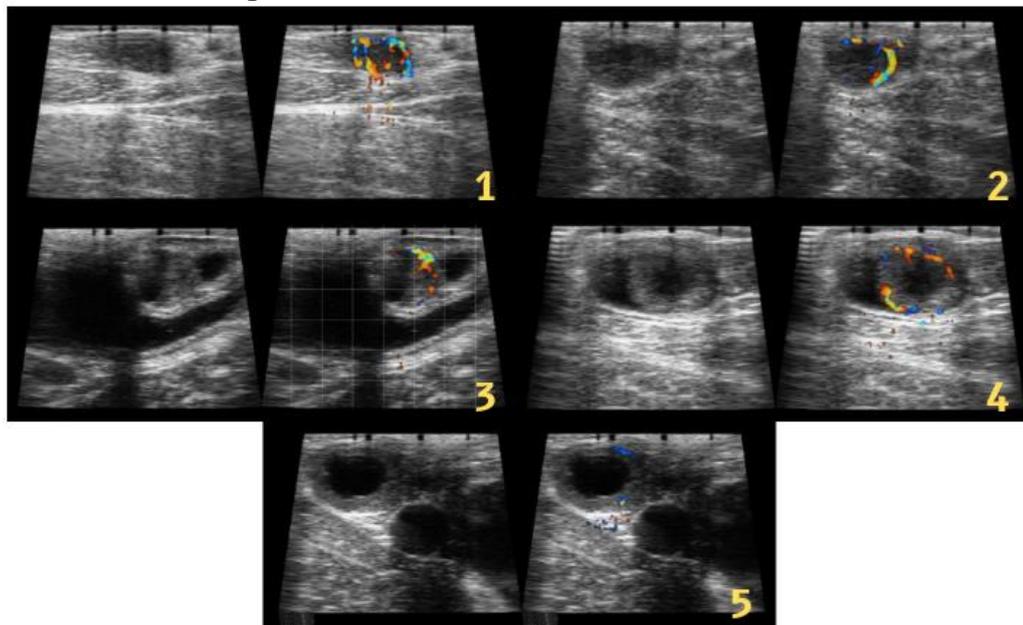
Fonte: Autora (2024).

Na avaliação em modo B é levado em consideração o tamanho do corpo lúteo, se há presença ou não de cavidade e seu tamanho, corpos lúteos com maior área de massa luteal e não cavitários são melhores avaliados que corpos lúteos com menor massa luteal e com presença de cavidade. Na avaliação em modo Color-Doppler é

analisado a vascularização do CL. Para os dois modos de avaliação é realizado uma classificação de 1 a 4 para o CL.

O CL é classificado de 1 a 4 (Figura 8), onde, “1” é um corpo lúteo excelente, “2” é um corpo lúteo muito bom, “3” é um corpo lúteo bom e “4” é um corpo lúteo regular, que pode ser considerado como reserva caso haja sobra de embriões, sempre dando preferência para os de melhor classificação. Além da classificação de qualidade, o CL também é classificado quanto ao ovário em que está presente, caso esteja no ovário direito é classificado como “OD”, caso esteja no ovário esquerdo é classificado como “OE”.

Figura 8. Imagens da ultrassonografia em modo color-Doppler com presença de CL em ovário de fêmeas bovinas receptoras em programa de TETF. As imagens 1, 2, 3 e 4 indicam, respectivamente corpos lúteos classificados como 1, 2, 3 e 4. A imagem 5 indica um CL cavitário e sem perfusão sanguínea, onde o animal seria descartado da TETF.

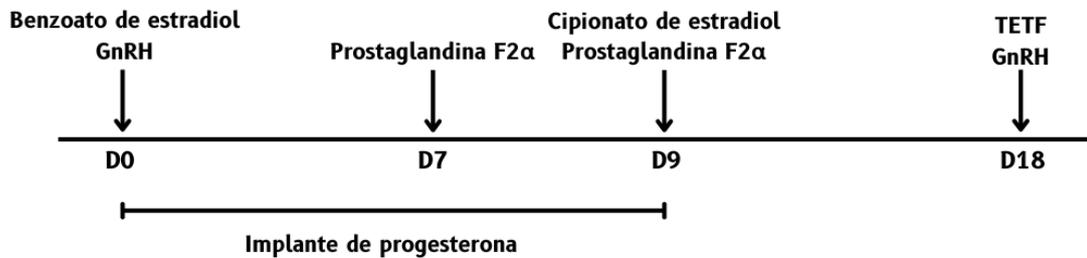


Fonte: Autora (2024).

Os animais selecionados para a TETF são submetidos a um protocolo hormonal (Figura 9) que tem início 17 dias antes da inovulação dos embriões. No dia da TETF inicialmente é feita a contenção das receptoras em brete convencional, a fim de facilitar a transferência de embrião e garantir a integridade física tanto do animal, quanto do Médico Veterinário, com os animais já contidos é realizado a assepsia no local entre a última vértebra sacral e a primeira vértebra coccígea, onde é realizado a anestesia epidural. Com o auxílio de uma seringa e uma agulha 1,2x40mm é realizado a aplicação de 4 mL de BLOC® (JA Saúde Animal, São Paulo, Brasil) (2g/100mL

Cloridrato de Lidocaína e 0,04g/100mL Cloridrato de Xilazina) no espaço sacrococcígeo, a fim de evitar a contração do reto.

Figura 9. Protocolo hormonal de sincronização das receptoras de embriões bovinos.



Fonte: Autora (2024).

A palheta contendo o embrião é encaixada em um inovulador de embrião bovino e são revestidos por uma bainha estéril e por uma camisinha sanitária. Após a higienização da vulva com papel toalha é realizada a abertura dos lábios vulvares, para que o médico veterinário consiga inserir o aplicador contendo o embrião sem levar sujidades externas para o útero do animal. O aplicador é inserido via transcervical (na entrada da cérvix a camisinha é rompida) e é guiado por manipulação retal até o corno uterino ipsilateral ao ovário com CL, ao chegar ao terço final do corno é realizado a inovulação do embrião.

Os embriões utilizados foram produzidos *in vitro* pelo laboratório Cenatte Embriões e transportados através de uma transportadora de embriões mantendo a temperatura de 38°C até o momento da transferência, os embriões foram transferidos a fresco, ou seja, não passaram por nenhum processo de criopreservação.

Todos os materiais necessários são mantidos em um local limpo (Figura 10) para que não haja contaminação dos mesmos.

Encerrada essa etapa, após 23 dias da TE é realizado a ultrassonografia via transretal para diagnóstico de gestação.

Figura 10. Materiais utilizados na TE.

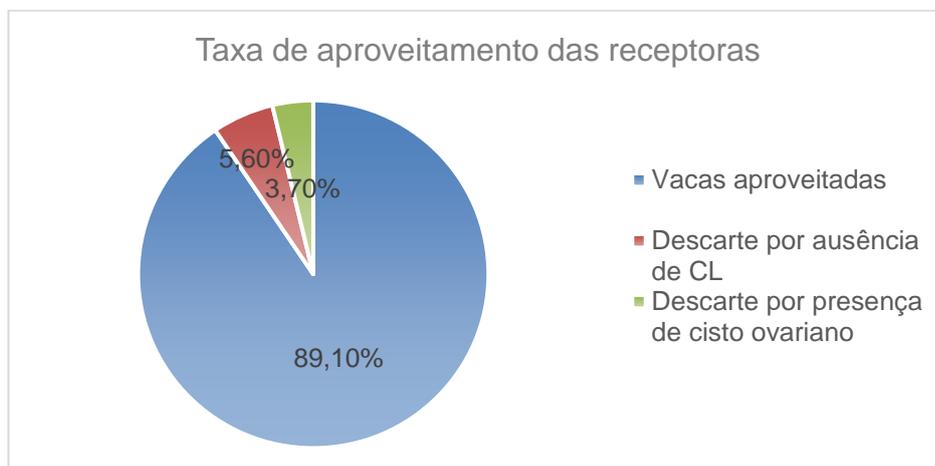


Fonte: Autora (2024).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 54 vacas avaliadas para a TETF, obteve-se uma taxa de aproveitamento de 89,1% (49/55), das 5 vacas descartadas, 60% (3/5) tiveram como causa a ausência de CL e 40% (2/5) tiveram como causa a presença de cisto ovariano (Figura 11).

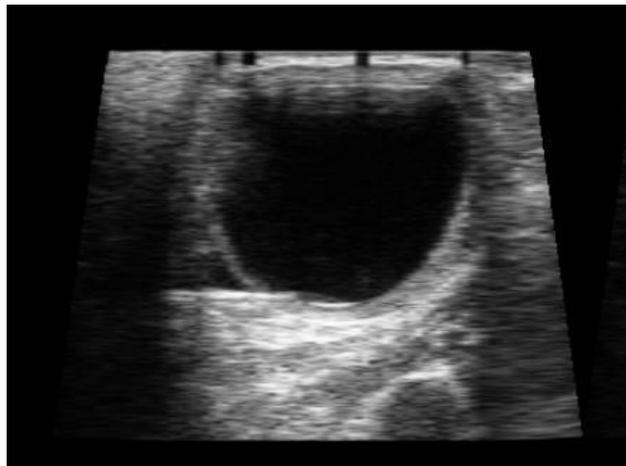
Figura 11. Gráfico que indica a taxa de aproveitamento das receptoras utilizadas no dia da TETF.



Fonte: Autora (2024).

Em bovinos, a manifestação de cisto ovariano (Figura 12) é descrita como a presença de uma estrutura anovulatória maior que 25 mm de diâmetro, que permanece no ovário, por no mínimo 10 dias, na ausência de um corpo lúteo (Garverick, 1997). Alguns estudos relatam que a incidência do cisto em vacas de leite varia entre 18 a 19% e mais de 70% dos cistos ovarianos ocorrem entre 16 a 50 dias após o parto, com maior ocorrência entre 30 a 40 dias (Erb; White, 1981; Kirk *et al.*, 1982; Cartmill *et al.*, 2001; Gümen *et al.*, 2003). A baixa incidência nesse caso pode estar relacionada ao baixo número de animais avaliados em relação ao número de vacas totais do rebanho e ao fato de que os animais não se encontravam na fase de pós-parto.

Figura 12. Cisto ovariano observado em imagem ultrassonográfica no modo B convencional.



Fonte: Autora (2024).

Para realizar a comparação da avaliação do CL no modo color-Doppler e no modo B os animais foram classificados em 4 grupos, demonstrados na tabela a seguir (Tabela 5).

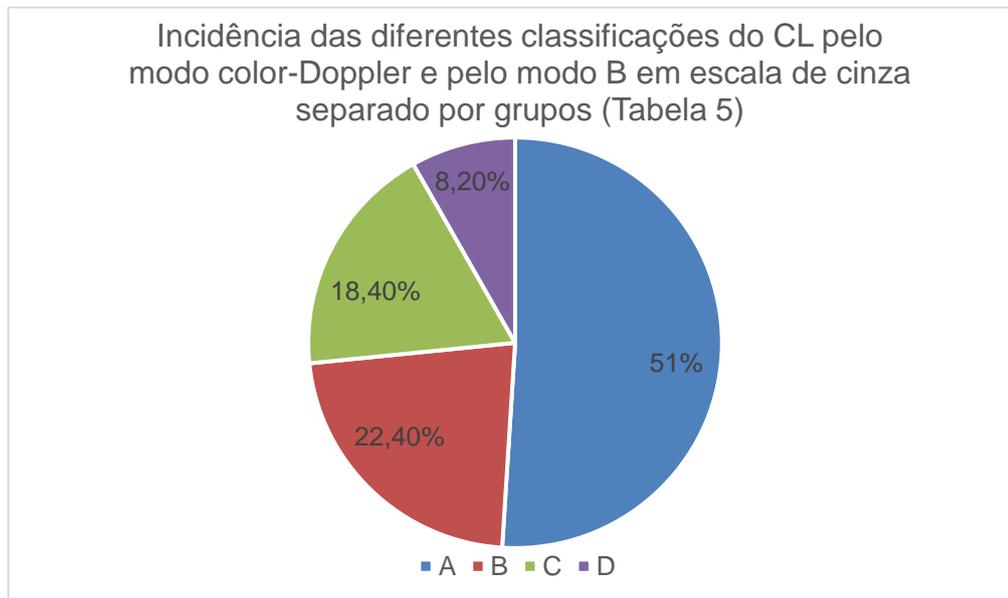
Tabela 5. Avaliação do CL no modo color-Doppler e no modo B em escala de cinza separado em 4 grupos distintos.

A	Excelente/muito bom Doppler	Excelente/muito bom modo B
B	Excelente/muito bom Doppler	Bom/mediano modo B
C	Bom/mediano Doppler	Excelente/muito bom modo B
D	Bom/mediano Doppler	Bom/mediano modo B

Fonte: Autora (2024).

Ao comparar as classificações do CL no modo color-Doppler e no modo B em escala de cinza, obteve-se um resultado de 59,2% (29/49) para pouca ou nenhuma variação na classificação do CL, sendo esses classificados como excelentes e muito bons (Grupo A) ou bons e medianos (Grupo D) tanto no modo color-Doppler como no modo B. Já 40,8% (20/49) dos animais apresentaram divergência nas avaliações, podendo ter o CL classificado como excelente e muito bom no modo color-Doppler e no modo B sido classificado como bom e mediano (Grupo B), ou classificado com bom e mediano no modo color-Doppler e no modo B classificado como excelente e muito bom (Grupo C) (Figura 13).

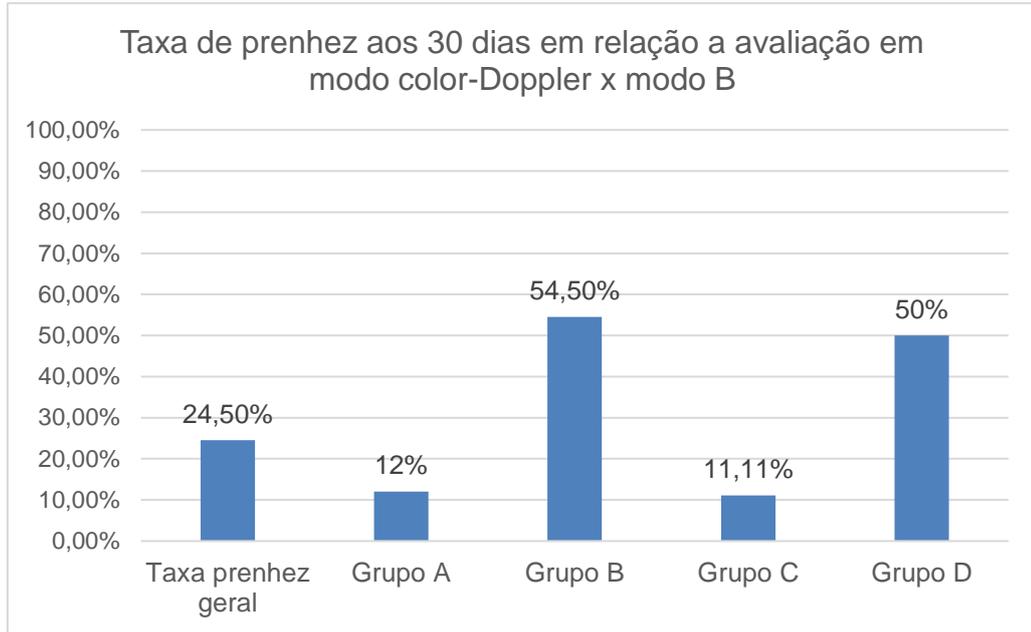
Figura 13. Gráfico que indica a incidência das diferentes classificações do CL pelo modo color-Doppler e pelo modo B em escala de cinza separado por grupos (Tabela 5).



Fonte: Autora (2024).

A taxa de prenhez geral aos 30 dias foi de 24,5% (12/49), relacionando a taxa de prenhez com os 4 grupos de avaliação, obteve-se os seguintes resultados: 12% (3/25) de prenhez para o grupo A, 54,5% (6/11) para o grupo B, 11,11% (1/9) para o grupo C e 50% (2/4) de taxa de prenhez para o grupo D, onde nesse último grupo as duas vacas prenhas tiveram seu CL classificados no modo color-Doppler como 3 e no modo B classificados como 4, se fosse realizada apenas a avaliação em modo B tradicional, essas 2 vacas seriam deixadas para reserva ou descartadas caso houvessem mais receptoras do que embriões (Figura 14).

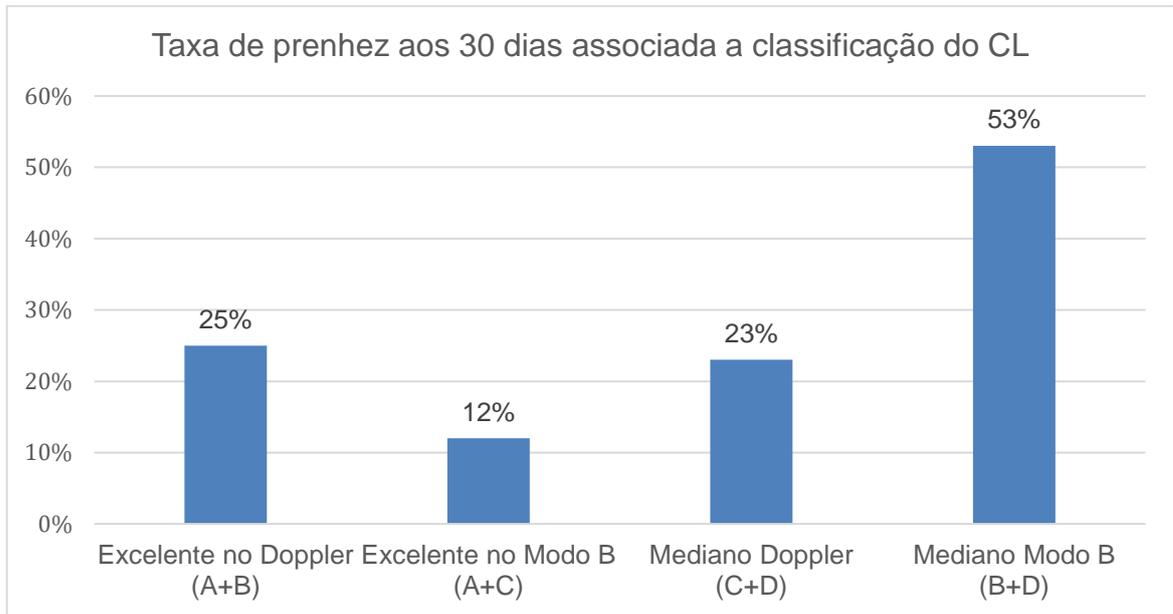
Figura 14. Gráfico que indica a taxa de prenhez aos 30 dias em relação a avaliação em modo color-Doppler x modo B.



Fonte: Autora (2024).

Ao relacionar a taxa de prenhez com a classificação do CL (Figura 15) obteve-se os seguintes resultados: classificados como excelente/muito bom no modo color-Doppler com 25% (9/36) de taxa de prenhez, classificados como excelente/muito bom no modo B convencional com 12% (4/34) de taxa de prenhez, classificados como bom/mediano no modo color-Doppler com 23% (3/13) de taxa de prenhez e classificados como bom/mediano no modo B convencional com taxa de prenhez de 53% (8/15).

Figura 15. Gráfico que indica a taxa de prenhez aos 30 dias associada a classificação do CL.



Fonte: Autora (2024).

Quando se compara as taxas de prenhez em animais com CL classificados como excelente/muito bom no modo color-Doppler e em animais com CL classificados como excelente/muito bom no modo B convencional há uma diferença expressiva, sendo 25% e 12%, respectivamente. Bollwein *et al.* (2012) descreve que a avaliação do fluxo sanguíneo no tecido luteal pode simbolizar maior precisão na hora de avaliar a funcionalidade do CL, devido a sua alta vascularização. A avaliação da perfusão sanguínea do tecido luteal pode ser de grande utilidade, pois maiores concentrações de P4 no início do diestro estão correlacionadas com maiores taxas de concepção e probabilidade de gestação, a angiogênese do CL se inicia logo após a ovulação e está estreitamente associada com as concentrações de P4 durante a fase de desenvolvimento, que dura aproximadamente até 8^o ao 10^o dia do ciclo estral (Mann; Lamming, 2001; Acosta *et al.*, 2003).

Apesar do tamanho do CL estar relacionado positivamente com as concentrações circulantes de progesterona (P4), podendo indicar função luteal, durante o tempo de regressão do CL a correlação com os níveis de P4 é menor, pois as taxas de decréscimo são mais rápidas para a progesterona do que para o tamanho do corpo lúteo (Assey *et al.*, 1993).

Ao comparar as taxas de prenhez das avaliações realizadas com o modo color-Doppler, a diferença foi insignificante, de apenas 2%, com 25% de prenhez para

CL com muito alta ou alta vascularização e 23% de prenhez para CL com média ou baixa vascularização. Esses resultados corroboram com os resultados obtidos por Tambuleni *et al.* (2019), que avaliaram 266 receptoras e descrevem que o fluxo sanguíneo do CL observado no dia da TE não interferiu na taxa de prenhez, com taxas de prenhez 36,1%, 40,0% e 35,2% para respectivamente, CL avaliados com fluxo sanguíneo intenso, regular e baixo. Reforçando os resultados obtidos pelo estudo de Palhão *et al.* (2013), onde foram avaliadas 165 receptoras previamente a TE, e não foi observado correlação entre a intensidade do fluxo sanguíneo no CL e a taxa de prenhez.

Em contrapartida, um estudo realizado por Pugliesi *et al.* (2016) sobre o impacto do fluxo sanguíneo no CL antes da TE, onde foram avaliadas 329 receptoras bovinas, teve como resultado 45,1% de prenhez para CL com baixa vascularização ($\leq 40\%$), 55,9% de prenhez para CL com média vascularização (45 a 50%) e 62,3% de prenhez para CL com alta vascularização ($\geq 55\%$).

Tambuleni *et al.* (2019) descreve que a avaliação da vascularização do corpo lúteo para a seleção de receptoras possui mais eficácia para o descarte de animais que apresentam CL com fluxo sanguíneo reduzido, conseqüentemente considerados inativos, chegando à conclusão de que o julgamento da funcionalidade do CL por diferenças de vascularização dos CL ativos não apresentou eficácia na hora de selecionar esses animais.

Lüttgenau *et al.* (2011) descreve que no início do diestro o tecido luteal ainda está em desenvolvimento, e não corrobora com as correlações entre a intensidade do fluxo sanguíneo de CL ativos e as concentrações de P4 no animal.

Já ao comparar as taxas de prenhez das avaliações realizadas no modo B em escala de cinza os resultados são contraditórios, onde obteve-se uma taxa de prenhez de 12% para CL avaliados como excelente/muito bom, e 53% para CL avaliados como bom/mediano. Onde nessa forma de avaliação os CL são avaliados em relação ao tamanho e presença ou não de cavidade, sendo CL maiores e sem cavidade melhores classificados do que CL menores e cavitários.

Porém a avaliação desses resultados deve ser criteriosa, tendo em vista o baixo número de animais classificados como bom/mediano no modo B (15/49). Como foi realizado duas formas de avaliação ultrassonográfica, como já descrito anteriormente, 2 fêmeas que posteriormente foram detectadas como prenhes, seriam descartadas do programa de TETF o que baixaria a taxa de prenhez de 53% (8/15)

para 40% (6/15), mesmo diante disso a taxa de gestação continuaria maior para CL avaliados como bom/mediano comparado aos resultados dos CL avaliados como excelente/muito bom em modo B convencional.

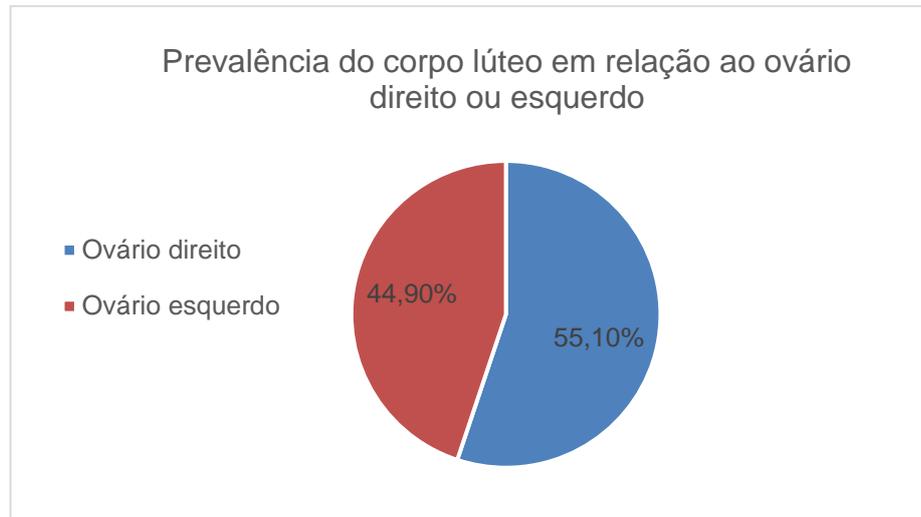
Também deve ser levado em consideração que o estabelecimento de uma gestação não depende somente do tamanho ou do fluxo sanguíneo do CL, mas também das concentrações de P4 produzidas, da dieta, sanidade, estresse térmico, superlotação, da qualidade do embrião transferido e dos mecanismos de reconhecimento materno para o estabelecimento da gestação, esses últimos, possivelmente mais decisivos para o estabelecimento da prenhez do que as características do CL.

Esses resultados corroboram com os resultados obtidos por Pinaffi *et al.* (2015), onde não foi observado diferença no tamanho do CL em relação a taxa de prenhez. Viera *et al.* (2002) também não observaram correlação entre o tamanho do CL no dia da TE e a taxa de prenhez, constatando taxa de gestação de 58,4%, 59,4% e 59,3% para respectivamente, CL classificados por palpação transretal como pequenos, médios e grandes. Em controvérsia, Tambuleni *et al.* (2019) descreveram que o tamanho do CL teve influência na taxa de prenhez dos animais, com taxas de 35,8%, 43,3%, 17,6% para CL classificados como grandes, médios e pequenos, respectivamente, em concordância com Nogueira *et al.* (2012) que constataram maior taxa de prenhez em animais que no dia da TE, apresentavam CL com diâmetros maiores do que CL menores.

O parâmetro de tamanho do CL para seleção de receptoras gera discordâncias entre estudos já há um certo tempo, no entanto, as metodologias para definir o tamanho do CL na maioria das vezes são diferentes, e a maior ocorrência de CL cavitários neste período, realça a diferença metodológica das classificações do seu tamanho (Tambuleni *et al.*, 2019).

Também foi avaliado a prevalência do CL por ovário, direito ou esquerdo, observou-se uma incidência do CL de 55,1% (27/49) para o lado direito e de 44,9% (22/49) para o lado esquerdo (Figura 16). Além disso, foi associado a taxa de prenhez aos 30 dias com o ovário em que o CL se encontrava (Figura 17).

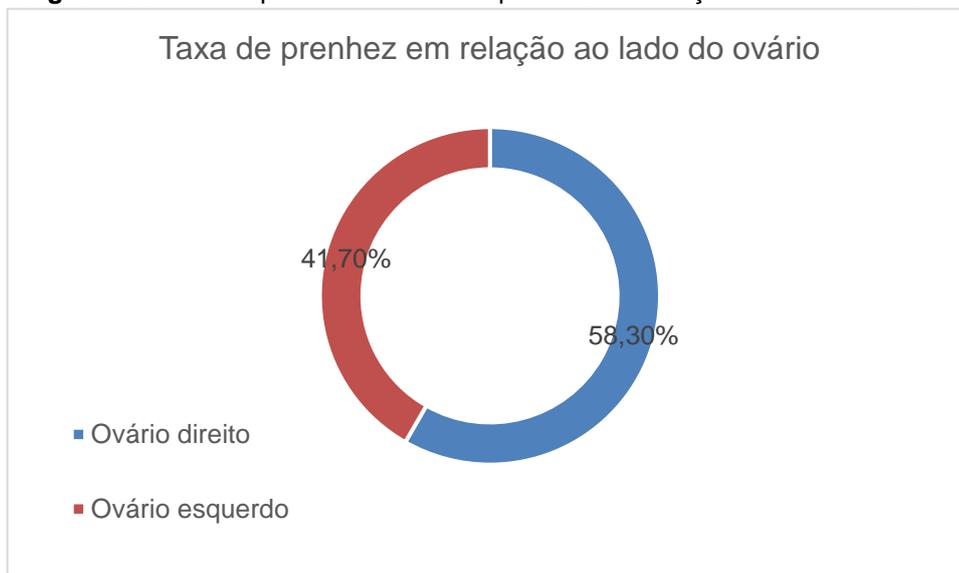
Figura 16. Gráfico que indica a prevalência do corpo lúteo em relação ao ovário direito ou esquerdo.



Fonte: Autora (2024).

Os resultados mostram uma maior incidência do CL no ovário direito do que no ovário esquerdo, coerente com a maior frequência de ovulações relatadas no ovário direito das fêmeas bovinas. Leal *et al.* (2009) constatou que 63,3% das ovulações ocorreram do lado direito e 36,7% do lado esquerdo. Hasler *et al.* (1987) relatam incidência de 57% para o ovário direito e 43% para o esquerdo. Para Jainudeen e Hafez (1995) a ovulação em vacas ocorre com maior frequência do lado direito, com 60%, do que do lado esquerdo, com 40% das ovulações.

Figura 17. Gráfico que indica a taxa de prenhez em relação ao lado do ovário.



Fonte: Autora (2024).

A taxa de prenhez para o lado direito do ovário foi de 58,30% (7/12), já para o lado esquerdo foi de 41,70% (5/12). É esperado que a taxa de prenhez tenha sido maior do lado direito, tendo em vista que a maiores taxas de ovulação foram constatadas no ovário direito.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Houve uma variação significativa na classificação do CL através do modo B e do modo Doppler. Em relação a taxa de prenhez o modo color-Doppler se mostrou mais eficaz para determinar a funcionalidade do CL pois apresentou maior taxa de prenhez.

Comparando apenas as classificações obtidas com o modo color-Doppler conclui-se que é o modo mais eficaz para a seleção de receptoras, pois detecta CL não funcionais, já a intensidade do fluxo sanguíneo não apresentou correlação com a taxa de prenhez.

7 REFERÊNCIAS

ABIEC. **Brasil bate novo recorde nas exportações de carne bovina em setembro.** Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne, [2024]. Disponível em: <https://www.abiec.com.br/brasil-bate-novo-recorde-nas-exportacoes-de-carne-bovina-em-setembro/>. Acesso em: 15 out. 2024.

ACOSTA T. J. *et al.* Local changes in blood flow within the preovulatory follicle wall and early corpus luteum in cows. **Reproduction**, v. 125, p. 759-767, 2003.

ACOSTA, T. J.; MIYAMOTO, A. Vascular control of ovarian function: ovulation, corpus luteum formation and regression. **Anim Reprod Sci**, v.82/83, p.127-140, 2004.

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

ASSEY R. J. *et al.* Corpus luteum size and plasma progesterone levels in cattle after cloprostenol-induced luteolysis. **Theriogenology**, v. 39, p. 1321-1330, 1993.

BALL, P. J. H.; PETERS, A. R. **Reprodução em bovinos**. São Paulo: Roca. 3 ed. 2006.

BARROS, C. M. et al. Tratamentos superestimulatórios utilizados em protocolos para a transferência de embriões bovinos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 35, n. 3, 2007.

BARUSSELI, P. S. *et al.* Importância do emprego da eCG em protocolos de sincronização para IA, TE e SOV em tempo fixo. **Biotecnologia de reprodução em bovinos** (3º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada). 2008.

BENITES, N. R.; BARUSELLI, P. S. Medicamentos empregados para sincronização do crescimento folicular e da ovulação para transferência de embriões. In H. S. Spinosa, S. L. Górnjak & M. M. Bernardi (Eds.), **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 329-344, 2011.

BERISHA, B. *et al.* Angiogenesis in the ovary – the most important ovulatory event for follicle and corpus luteum development and function in cow – an overview. **Journ of Vet Med**, v.32, p.149-164, 2015.

BERISHA, B.; SCHAMS, D. Ovarian functions in ruminants. **Domest Anim Endocrinol**, v.29, n.2, p.305-317, 2005.

BERTAN, C. M. **Mecanismos endócrinos e moleculares pelos quais o estradiol estimula a síntese de prostaglandina F2 α no endométrio de fêmeas bovinas**. 2004. 185p. Tese (Doutorado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

BINELLI, M. *et al.* Anti-luteolytic strategies to improve fertility in cattle. **Theriogenology**, v. 56, n. 9, p.1451-1463, 2001.

BÓ, G. A.; CUTAIA, L; REIS, L. El uso de tratamientos hormonales para mejorar el desempeño reproductivo en ganado de carne en anestro en climas tropicales. **Simposio Internacional de Reproducción Bovina**, p. 125-137, 2004.

BOLLWEIN, H. *et al.* Bovine luteal blood flow: basic mechanism and clinical relevance. **Reprod, Fertil and Dev**, v. 25, p. 71-79, Dec. 2012.

BUENO, A. P.; BELTRAN, M. P. Produção *in vitro* de embriões bovinos. **Revista Científica Eletrônica De Medicina Veterinária**. ISSN 1679-7353, ano VI, n.11, julho, 2008.

CARTMILL, J. A. *et al.* Stage of cycle, incidence, and timing of ovulation, and pregnancy rates in dairy cattle after three timed breeding protocols. **J. Dairy Sci.**, v. 84, p. 1051–1059, 2001.

DE CASTRO, T. Anestro posparto em la vaca de cria. In: Ungerfeld, R. **Reproducción em los animales domésticos**. Montevideo: Melibea. 1 ed., v. 1, p. 207-218, 2002.

DIAZ, F. J. *et al.* Regulation of progesterone and prostaglandin F_{2α} production in the CL. **Mol Cell Endocrinol**, v.191, p.65-68, 2002.

DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H. D; STÖBER, M. **Exame Clínico dos Bovinos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 419, 1993.

ERB, N. H.; WHITE, M. E. Incidence rates of cysts follicles in Holstein cows according to 15 days and 30 days intervals. **Cornell Vet.**, v. 71, p. 326-331, 1981.

FERNANDES, C. A. C. **Efeito do tratamento com hormônio folículo estimulante (FSH) sobre a taxa de gestação de novilhas mestiças usadas como receptoras de embriões**. Viçosa, 1994. 63 f. Dissertação (Mestrado) – Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1994.

FIGUEIREDO, J. R.; CELESTINO, J. J. H.; RODRIGUES, A. P. R.; SILVA, J. R. V. Importância da biotécnica de MOIFOPA para o estudo da foliculogênese e produção *in vitro* de embriões em larga escala. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, p.143-152, 2007.

GARCIA, H. D. M. **Estresse calórico sobre a luteólise de vacas holandesas não lactantes**. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). 2015. 56p. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Júlio de Mesquita Filho – UNESP, Botucatu, 2015.

GARVERICK, H. A. Ovarian follicular cysts in dairy cows. **J. Dairy Sci.**, v.80, p. 995-1004, 1997.

GASPERIN, B. G. *et al.* **Ultrassonografia reprodutiva em fêmeas bovinas e ovinas**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 1 ed. 35 p. 2017.

GINTHER, O. J. **Reproductive Biology of the Mare: Basic and Applied Aspects**. Second Edition. Cross Plains WI: Equiservices, 1992.

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

GINTHER, O. J.; RAKESH, H. B.; HOFFMAN M. M. Blood flow to follicles and CL during development of the periovulatory follicular wave in heifers. **Theriogenology**, v. 82, n. 2, p. 304-311, 2014.

GREGORY, R. M.; ROCHA, D. C. Protocolos de sincronização e indução de estros em vacas de corte no Rio Grande do Sul. **Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**, v. 1, p. 147-154, 2004.

GRUNERT, E. *et al.* Patologia e clínica da reprodução dos animais mamíferos domésticos: ginecologia. **Patologia e clínica da reprodução dos animais mamíferos domésticos: ginecologia**. São Paulo: Varela. 2005.

GUARDA, A. C. A. **Biotecnologia na reprodução animal: Uma visão teórico/prática de produção *in vitro* de embriões bovino**. 2023. 28p. Trabalho de Conclusão de curso (Bacharelado de Zootecnia). Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Rio Verde, Rio Verde, GO, 2023.

GÜMEN, A. *et al.* Follicular size and response to Ovsynch versus detection of estrus in anovular and ovular lactating dairy cows. **J. Dairy Sci.**, v. 86, p. 3184-3194, 2003.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**. São Paulo: Manole. 7 ed. 2004.

HASLER, J. F. *et al.* Effect of donor-embryo-recipient interactions and pregnancy rate in a large-scale-bovine embryo transfer program. **Theriogenology**, v. 27, n. 1, p. 139-168, 1987.

HELPER. L. C. Diagnosis of pregnancy in the bitch with an ultrasonic Doppler instrument. **J Am Vet Med Assoc**, v.156p. 60-62, 1970.

IBGE. **Produção da pecuária municipal**. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, [2023]. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html>. Acesso em: 12 set. 2024.

IMAC. **Pecuária no Brasil: conheça a importância para o país**. Instituto Mato-grossense da Carne, [2023]. Disponível em: <https://imac.agr.br/pecuaria-no-brasil-conheca-a-importancia-para-o-pais/#:~:text=A%20pecu%C3%A1ria%20no%20Brasil%20%C3%A9,de%20carne%20bovina%20e%20su%C3%ADna>. Acesso em: 15 set. 2024.

JAINUDEEN, M. R.; HAFEZ, E. S. E. Bovinos e bubalinos. In: HAFEZ, E. S. E. **Reprodução animal**. São Paulo: Manole, p. 319-334, 1995.

KIRK, J. H. *et al.* Bovine cysts ovarian disease. Hereditary relationship and case study. **J. Anim. Vet. Assoc.**, v. 181, p. 474-476, 1982.

LEAL, L. S. *et al.* Avaliação do corpo lúteo, contratilidade uterina e concentrações plasmáticas de progesterona e estradiol em receptoras de embriões bovinos. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 1, p. 174-183, jan./mar. 2009.

LÜTTGENAU J. *et al.* Plasma progesterone concentrations in the mid-luteal phase are dependent on luteal size, but independent of luteal blood flow and gene expression in lactating dairy cows. **Anim Reprod Sci**, v. 125, p. 20-29, 2011.

LUZ, M. R.; CELEGHINI, E. C. C.; BRANDÃO, F. Z. **Reprodução animal: bovinos, caprinos e ovinos**. 1. ed. Santana de Parnaíba: Manole, 2024. E-book. v. 2. 433 p. ISBN 9788520465318. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788520465318/>. Acesso em: 01 set. 2024.

MANN G. E.; LAMMING G. E. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. **Reproduction**, v. 121, p. 175-180, 2001.

MIES FILHO, A. **Reprodução dos animais**. Porto Alegre: Livraria Sulina Editora, v. 1, 1987.

MIYAMOTO, A. *et al.* Blood flow: a key regulatory componente of corpus luteum function in the cow. **Dom Anim Endocrinol**, v29, p.329-339, 2005.

NOGUEIRA E. *et al.* Effect of breed and corpus luteum on pregnancy rate of bovine embryo recipients. **Rev Bras Zootec**, v. 41, n. 9, p. 2129-2133, 2012.

PALHÃO M. P. *et al.* Ultrasound features of the corpus luteum on the day of transfer and pregnancy diagnosis of bovine recipients: preliminary results. **Anim Reprod**, v.10, n. 3, p. 627, 2013.

PASA, C. Transferência de embriões em bovinos. **Biodiversidade**, v. 7, n. 1, 2008.

PENNA, V. M. Núcleos MOET em bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, n. 4, p. 82-104, 1993.

PINAFFI F. L. V. *et al.* Follicle and corpus luteum size and vascularity as predictors of fertility at time of artificial insemination and embryo transfer in beef cattle. **Pesq Vet Bras**, v. 35, p. 470-476, 2015.

PUGLIESI G. *et al.* Use of Color-Doppler ultrasonography to improve selection of higher fertility beef recipient cows for embryo transfer. **Anim Reprod**, v. 13, p. 454, 2016.

PUGLIESI, G. *et al.* Uso da ultrassonografia Doppler em programas de IATF e TETF em bovinos. **Rev Bras Reprod Anim**, Belo Horizonte, v. 41, n. 1, p. 140-150, jan./mar. 2017.

RIZOS, D. *et al.* Consequences of *in vitro* culture conditions on embryo development and quality. **Reprod. Domest. Anim.**, v. 43, Suppl. 4, p. 44-50, 2008.

ROCHA, C. C. **Estratégias para otimização da eficiência reprodutiva de bovinos: suplementação com progesterona no início do diestro e diagnóstico precoce de gestação.** 2017. 43p. Monografia (Bacharelado em Medicina Veterinária). Centro de Ciências Rurais. Universidade federal de Santa Catarina, Curitibanos, 2017.

SANGHA, G. K. *et al.* Biology of corpus luteum in small ruminants. **Small Rumint Res**, v.43, p.53-64, 2002.

SILVA, E. I. C. **Fisiologia Clínica do Ciclo Estral de Vacas Leiteiras - Desenvolvimento Folicular, Corpo Lúteo e Etapas do Estro.** 2020.

SPENCER, T. E.; FORDE, N.; LONERGAN, P. The role of progesterone and conceptus-derived factors in uterine biology during early pregnant in ruminants. **Journ of Dairy Sci**, v98, p.1-10, 2015.

TAMBULENI, A. H. P. *et al.* Avaliação de receptoras de embriões bovinos usando ultrassonografia modo-B e Doppler colorido. **Rev Bras Reprod Anim**, v. 43, n. 1, p. 25-30, jan./mar. 2019.

THOMPSON, F. Reprodução em mamíferos do sexo feminino. In W. Reece & Dukes (Eds.), **Fisiologia dos Animais Domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 12 ed., p. 644-669, 2006.

TREVISOL, E. *et al.* Luteal changes after treatment with sub-luteolytic doses of prostaglandin (cloprostenol sodium) in cattle. **Anim Reprod Sci**, v.153, p.8-12, 2015.

VIANA, J. H. M. *et al.* Características morfológicas e funcionais do corpo lúteo durante o ciclo estral em vacas da raça Gir. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 51, n. 3, p. 251-256, 1999.

VIANA, J. H. M. Levantamento estatístico da produção de embriões bovinos no Brasil em 2011: mudanças e tendências futuras. **O Embrião**, ano XVI, 51 ed. p. 6-10, 2012.

VIERA R. C. *et al.* Relação entre a morfologia do corpo lúteo e índices de prenhez em receptoras de embriões bovinos. **Biosci J**, v. 18, p. 99-102, 2002.

VRISMAN, D. P. *et al.* Corpus luteum dynamics after ovulation induction with or without previous exposure to progesterone in prepubertal Nelore heifers. **Theriogenology**, v.106, p.60-68, 2017.

WEBB, R. *et al.* Corpus luteum function: local control mechanisms. **Domest Anim Endocrinol**, v.23, p.277-285, 2002.