



## Produção de embriões *in vitro* com sêmen sexado de touros nelore. *In vitro* embryo production with sexed semen of nelore bulls.

[Eduarda Letícia da Silva Barrozo](#)<sup>1</sup>, [Vinício Araujo Nascimento](#)<sup>2</sup>, [Marcia Dias](#)<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Médica Veterinária – Universidade Federal de Jataí – UFJ, Jataí – GO.

E-mail: [eduardaleticiata14@gmail.com](mailto:eduardaleticiata14@gmail.com)

<sup>2</sup> Docente do curso de Zootecnia – Universidade Federal de Jataí – UFJ, Jataí – GO.

E-mail: [vinicio\\_nascimento@ufj.edu.br](mailto:vinicio_nascimento@ufj.edu.br), [diasmarcia@ufj.edu.br](mailto:diasmarcia@ufj.edu.br).

### Resumo

Objetivou-se analisar o efeito do tipo de sêmen, convencional e sexado, na produção *in vitro* de embriões. Foram maturados e fertilizados com sêmen convencional 1.285 oócitos e 1.155 oócitos com sêmen sexado, obtendo 1.167 (90,55%) e 1.051 (90,68%) zigotos na fecundação com sêmen convencional e sexado, respectivamente ( $P=0,8411$ ). No cultivo *in vitro*, avaliou-se a clivagem embrionária em 769 (67,42%) dos zigotos provenientes de sêmen convencional e 540 (55,12%) dos zigotos de sêmen sexado ( $P=0,8411$ ). Não houve diferença estatística em ambas as variáveis analisadas. No dia 7, avaliou-se a quantidade de embriões viáveis produzidos, sendo 428 (53,55%) embriões convencionais e 138 (30,64%) embriões viáveis provenientes de sêmen sexado ( $P=0,0001$ ). Houve diferença significativa, portanto, obteve melhor conversão embrionária com o sêmen convencional em relação ao sêmen sexado de touros da raça Nelore.

**Palavras-chave:** Biotécnicas da Reprodução. Bovinos. Conversão embrionária. Eficiência Reprodutiva.

### Abstract

The objective was to analyze the effect of the type of semen, conventional and sexed, on the *in vitro* production of embryos. A total of 1,285 oocytes and 1,155 oocytes with sexed semen were matured and fertilized with conventional semen, obtaining 1,167 (90.55%) and 1,051 (90.68%) zygotes in fertilization with conventional and sexed semen, respectively ( $P=0.8411$ ). In *in vitro* culture, embryo cleavage was evaluated in 769 (67.42%) of zygotes from conventional semen and 540 (55.12%) from zygotes from sexed semen ( $P=0.8411$ ). There was no statistical difference in both analyzed variables. On day 7, the number of viable embryos produced was evaluated, being 428 (53.55%) conventional embryos and 138 (30.64%) viable embryos from sexed semen ( $P=0.0001$ ). There was a significant difference, therefore, it obtained better embryonic conversion with conventional semen in relation to sexed semen of Nelore bulls.

**Keywords:** Reproduction Biotechniques. Cattle. Embryonic Conversion. Reproductive Efficiency.

## Introdução

A Produção *in vitro* de embriões (PIVE) é umas das biotécnicas de reprodução que atualmente vem ganhando destaque acentuado na pecuária brasileira, visto que possibilita introduzir no rebanho, animais de alto valor genético a partir, de óvulos e espermatozoides geneticamente selecionados e avaliados, objetivando produzir mais descendentes em menor intervalo de tempo, de forma a maximizar o melhoramento genético mundial. Assim, é a biotécnica que possibilita a difusão da seleção genética materna. No ciclo estral *in vivo* apenas um oócito chega até a ovulação, com a técnica da PIVE espera-se que inúmeros oócitos tornem-se embriões (MERTON et al., 2003, p. 651).

Segundo Bertolini e Bertolini (2009, p. 184), houve quatro gerações de tecnologia da reprodução assistida em humanos e animais. A primeira geração foi marcada pela: Inseminação Artificial (IA) e a criopreservação de gametas e embriões; já na segunda geração tem-se a superovulação e transferência de embriões; enquanto na terceira geração foi marcada pela sexagem espermática e embrionária, a fertilização *in vitro* e recuperação de oócitos; e a quarta geração que inclui a clonagem por transferência nuclear de células embrionárias e/ou somáticas, a transgenia e a biologia de células-tronco. Portanto, a cada geração houve uma evolução significativa pela relação entre as gerações.

No que tange ao uso de sêmen convencional e sexado, a pecuária Brasileira vem registrando ano após ano, elevados índices de coletas de doses de sêmen bovino, sendo registrado o maior número de coleta no primeiro semestre de 2021, total de 10.788.006 doses de sêmen, em virtude de maior uso das biotécnicas de reprodução, as quais têm potencializado cada vez mais o mercado de melhoramento genético (ASBIA, 2021).

Segundo os dados da Associação Brasileira de Inseminação Artificial (ASBIA, 2019), o uso do sêmen sexado aumentou significativamente em 2018, especificamente de janeiro a setembro, sendo comercializada um total de 306.052 doses de sêmen sexado para pecuária de leite e corte, sendo estas doses para importação e comercialização nacional, no mesmo período de janeiro a setembro de 2019 foram comercializadas 384.515 doses registrando (alta de 25,64%), no ano de 2020 chegou a comercializar 503.078 doses, havendo um crescimento de 30,83%. Esse crescimento se dá em virtude da importância para a pecuária de leite, visto que a seleção de fêmeas para o pecuarista de leite é mais importante, enquanto o pecuarista de corte se beneficia com o nascimento de ambos os sexos. Além disso, outras vantagens do uso dessa tecnologia de sexagem se aplica na redução de partos distócicos, redução da taxa de descartes de machos, acelera o melhoramento genético do rebanho, aumenta a taxa de nascimento de fêmeas, além disso essa ferramenta da sexagem pode ser usada em conjunto com as estratégias de uso do sêmen convencional no rebanho, de forma que o sexado seja usado preferencialmente em novilhas, visto que as jovens são mais fáceis de emprenhar ou em vacas com ótimo desempenho reprodutivo.

A técnica de congelamento de sêmen em palhetas, viabilizou a realização da técnica de produção de embriões *in vitro*, visto que para a realização da etapa da Fertilização *in vitro* na PIVE faz-se o uso de sêmen convencional ou sexado. A junção de ambas as biotécnicas promoveram de forma significativa o melhoramento genético por meio de acasalamentos de animais de alto valor genético, gerando descendentes geneticamente superiores.

No Brasil tem-se uma comercialização e utilização mais elevada de sêmen convencional em relação ao sêmen sexado, em virtude do elevado preço do sêmen sexado decorrente do processo de sexagem, além deste tem-se uma baixa taxa de prenhez quando comparado com o convencional. O processo de sexagem mais utilizado atualmente é a técnica de citometria de fluxo, através desta é

possível realizar a sexagem do sêmen bovino, promovendo a separação dos espermatozoides X e Y, deste modo possibilita ao produtor a escolha do sexo feminino ou masculino, tanto para bovinos de corte como de leite. Mesmo assim, o sêmen convencional é bastante utilizado (ABS GLOBAL, 2000), por conter maior concentração espermática nas palhetas em comparação com o sexado, o que afeta diretamente a fertilidade e, conseqüentemente, a produção de embriões.

Assim, objetivou-se avaliar o uso de sêmen convencional e sexado na produção de embriões *in vitro*, considerando o desenvolvimento embrionário.

## Material e métodos

Utilizou-se os dados da estação de monta do ano de 2021 a 2022, realizada pela empresa PECPLAN ABS Importação E Exportação Ltda, na filial situada na cidade Xinguara localizada no sudeste do estado do Pará, o laboratório durante a estação de monta atende todo o Pará e também propriedades localizadas nos estados vizinhos como Maranhão, Tocantins e Mato Grosso.

Todos os touros usados no comparativo pertencem a raça Nelore, sendo estes selecionados de forma que o mesmo touro seja fornecedor tanto de sêmen sexado quanto convencional. Foram selecionados nove touros, produtores de sêmen Convencional e Sexado, sendo, portanto, nove touros para sêmen convencional e nove touros para o sêmen sexado os quais foram utilizados na produção de embrião *in vitro* durante o período de estação de monta, obtendo assim um resultado comparativo mais fidedigno.

O Laboratório da ABS de Xinguara é voltado para a produção e comercialização de embriões bovinos. Esta produção engloba desde o trabalho realizado a campo: aspiração folicular (*ovum pick up* OPU) para coleta de oócitos até a fase de diagnóstico de gestação (DG), enquanto a parte laboratorial envolve a: recepção dos oócitos para maturação *in vitro* (MIV), fertilização *in vitro* (FIV), cultivo *in vitro* (CIV) e posteriormente o envase dos embriões para que estes sejam transferidos as receptoras previamente selecionadas. Além destes, o laboratório também realiza o processo de criopreservação dos embriões.

Na técnica da PIVE foram realizadas etapas sequenciais para a produção do embrião propriamente dito, as quais foram: Aspiração folicular (OPU), Maturação oocitária *in vitro* (MIV), Fertilização *in vitro* (FIV) e o Cultivo *in vitro* (CIV).

Após ser realizada a coleta e seleção dos oócitos, os mesmos foram transportados até o laboratório devidamente armazenado sob uma temperatura de 38,5 °C, com uma atmosfera com 5% de CO<sub>2</sub> em ar e com umidade de 95%, iniciando assim a fase de maturação *in vitro* (Figura 1). Os oócitos foram colocados em criotubos contendo meio de MIV, a partir do momento que os oócitos entraram em contato com o meio iniciou-se a fase MIV. Este processo deve durar 22-24 horas e os criotubos devem ser transladados até o laboratório em transportadora de oócitos (TO) contendo a presença de CO<sub>2</sub> no seu interior e vedação com rolhas.



Figura 1- Oócitos em criotubos no meio de MIV, prontos para passar no meio de lavagem e em seguida iniciar o processo da fertilização *in vitro*. Fonte: Autor (2022).

O período de maturação variou de 18 a 24 horas em atmosfera controlada contendo 5% de CO<sub>2</sub> em ar e umidade saturada nas incubadoras as quais mantêm uma atmosfera e temperatura controladas e adequadas.

Depois ocorreu a combinação do material genético dos gametas, ou seja, o espermatozoide entrou em contato com o oócito (Figura 2), havendo a formação do zigoto, o qual no decorrer do seu desenvolvimento deu origem ao estágio de blastocisto. O processo de fertilização *in vitro* ocorreu entre um período 22-24 horas com temperatura de 39°C em estufa de 5% de CO<sub>2</sub>.

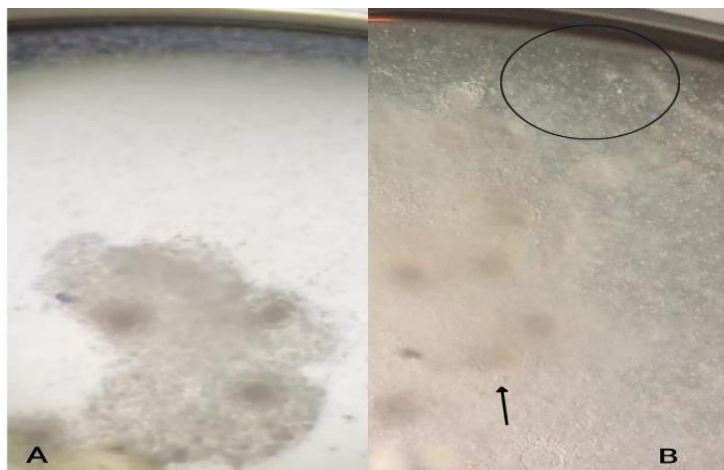


Figura 2- Oócitos prontos para iniciar o processo de fertilização *in vitro* (A), oócitos em contato com o sêmen (B). Fonte: Autor (2022).

Para a realização da Fertilização *in vitro*, faz-se necessário realizar o preparo do sêmen, essa etapa envolve a capacitação dos espermatozoides tornando-os aptos e eficientes na fecundação. No preparo realizava o descongelamento do sêmen no descongelador de sêmen por 45 a 60 segundos a uma temperatura de 37°C para não os danificar e posteriormente foi realizado a centrifugação do sêmen selecionado pelo método Gradiente descontínuo de Percoll (45/90%) separando a fração dos espermatozoides viáveis dos não viáveis e do plasma seminal.

Na fase de cultivo *in vitro* (CIV) conforme a (Figura 3), basicamente ocorre o desenvolvimento dos zigotos até o estágio de blastocisto. O cultivo dos zigotos iniciava após 24 h da FIV, sendo necessário antes realizar o desnudamento com uma pipeta para em seguida transferir para o meio de cultivo *in vitro*. O cultivo estendeu-se por sete dias após a fecundação *in vitro*, sendo neste período realizado a avaliação dos embriões quanto à clivagem e a qualidade embrionária para transferência ou criopreservação.

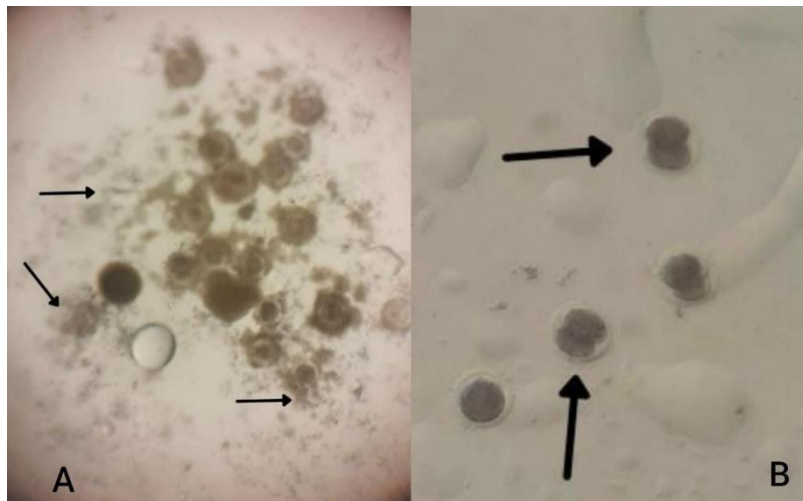


Figura 3- Zigotos no início do cultivo *in vitro* (A). Zigotos em divisão celular durante o cultivo (B). Fonte: Autor (2022).

Durante esse período de sete dias considera-se a Fertilização *in vitro* no Dia zero (D0), passando mais 24h inicia o cultivo *in vitro* com 48h no Dia um (D1), nos dia dois e três (D2 e D3) mantém na incubadora para continuar as divisões celulares, no Dia quatro (D4) realiza a avaliação da clivagem e retorna para a incubadora, no Dia seis (D6) é realizada a previsão de quantidade de embriões, no Dia sete (D7) ocorreu a classificação e saída dos embriões (Figura 4) para envase a fresco ou congelamento de embriões produzidos.



Figura 4 - Embriões produzidos no processo da PIVE.  
Fonte: Autor (2022).

A classificação dos embriões foi quanto a qualidade e morfologia, sendo estas: Mórula (MO), Blastocisto Inicial (BI), Blastocisto (BL), Blastocisto Expandido (BX), Blastocisto Eclodido (BE) às quais podem ser observadas no (Anexo 1) segundo o manual da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões (IETS, 1998, p. 112)

Foram avaliadas as seguintes variáveis: oócitos fecundados, clivagem e a quantidade de embriões viáveis produzidos. Para a obtenção da variável porcentagem de oócitos fecundado considerou-se os valores dos oócitos maturados em relação aos valores obtidos no cultivo; para a variável porcentagem de clivados considerou-se os valores obtidos de zigotos cultivados e para a variável porcentagem de embriões viáveis considerou os valores obtidos na clivagem.

Essas variáveis foram avaliadas considerando o efeito do tipo de sêmen (convencional e sexado) na produção de embriões *in vitro* por regressão logística no programa Statistical Analysis System (SAS,  $P < 0,05$ ) considerando o efeito do touro.

## Resultados e discussão

Não houve diferença ( $P > 0,05$ ) para o tipo de sêmen ao avaliar o percentual de oócitos fecundados (Tabela 1). Foram maturados e fertilizados com sêmen convencional 1.285 oócitos e 1.155 oócitos com sêmen sexado, obtendo 1.167 (90,55%) e 1.051 (90,68%) zigotos na fecundação com sêmen convencional e sexado, respectivamente ( $P = 0,8411$ ).

Tabela 1 - Oócitos expostos na FIV, zigotos cultivados e porcentagem da conversão de oócitos em zigotos após a fecundação com o uso de sêmen convencional e sexado de touros da raça Nelore e a diferença do valor-P em relação a produção individual de cada sêmen

TOURO	OÓCITOS FIV/ CONVENCIONAL	ZIGOTOS CULTIVADO/ CONVENCIONAL	% de FIV	OÓCITOS FIV/ SEXADO	ZIGOTOS CULTIVADO/ SEXADO	% de FIV	VALOR P
1	43	38	88,37	38	37	97,37	-
2	143	120	83,92	116	107	92,24	-
3	131	113	86,26	110	102	92,73	-
4	222	219	98,65	242	214	88,43	-

5	231	204	88,31	234	211	90,17	-
6	131	125	95,42	113	110	97,35	-
7	57	51	89,47	61	45	73,77	-
8	271	244	90,04	201	189	94,03	-
9	56	53	94,64	40	36	90,00	-
TOTAL	1285	1.167	90,56	1.155	1.051	90,68	0,8411

Analisando os zigotos cultivados e clivados (Tabela 2), obteve-se um total de 1.167 zigotos provenientes da FIV com sêmen convencional e 1.051 zigotos provenientes da FIV com sêmen sexado cultivados *in vitro*. Dos 1.167 zigotos provenientes do sêmen convencional, apenas em 769 realizou a clivagem e dos 1.051 zigotos provenientes de sêmen sexado, apenas 540 realizou a clivagem, obtendo um percentual de 67,42% clivados com sêmen convencional e um percentual de 55,12% clivados provenientes do sêmen sexado. Em ambas as variáveis de fecundados e cultivados o valor P foi de (P=0,8411) não havendo diferença estatística significativa para os valores percentuais obtidos na FIV e na Clivagem.

Tabela 2 - Zigotos cultivados e os zigotos clivados, com respectiva porcentagem de clivagem com o uso de sêmen convencional e sexado por touros da raça Nelore, e a diferença do valor-P em relação a produção individual de cada sêmen

TOURO	ZIGOTOS CULTIVADOS/ CONVENCIONAL	ZIGOTOS CLIVADOS/ CONVENCIONAL	% DE CLIVAGEM	Nº DE ZIGOTOS CULTIVADOS / SEXADO	Nº DE ZIGOTOS CLIVADOS/ SEXADO	% DE CLIVAGEM	VALOR P
1	38	30	78,95	37	31	86,49	-
2	120	97	80,83	107	60	56,07	-
3	113	94	83,19	102	28	27,45	-
4	219	189	86,30	214	85	39,72	-
5	204	139	68,14	211	105	49,76	-
6	125	39	31,20	110	55	50,00	-
7	51	28	54,90	45	17	37,78	-
8	244	112	45,90	189	129	68,25	-
9	53	41	77,36	36	29	80,56	-
TOTAL	1.167	769	67,42	1.051	540	55,12	0,8411

Mello et al. (2016, p. 1773) ao contrário do observado neste experimento, observaram diferenças para clivagem e a produção de blastocistos em relação ao uso de sêmen convencional e sexado, o qual foi obtido 58,89% de clivagem e 76,42% de blastocisto ao usar sêmen convencional, enquanto o sexado obteve menores taxas de 27,50% de clivagem e 23,13% de blastocisto evidenciando uma melhor taxa de clivagem e produção de blastocisto do sêmen convencional na produção de embriões *in vitro*.

Foi possível observar diferenças de conversões embrionárias do sêmen convencional e sexado por touro (P<0,05), com menor conversão embrionária do sexado (Tabela 3). Trigal et al. (2012, p. 1465) relata que obtiveram na PIVE uma maior taxa de blastocisto ao utilizar sêmen convencional do que sexado. Blondin et al. (2009, p. 30), reafirmam que obtiveram melhores resultados para produzir blastocisto *in vitro* ao usar sêmen convencional do que sexado. Essa menor taxa de produção de embriões do sêmen sexado pode ser em virtude do processo de sexagem do sêmen conforme afirmam alguns autores (MOCE et al, 2006, p. 66), no processo de sexagem tem-se a aceleração da reação acrossômica e, conseqüentemente, a capacitação espermática, as quais induz alterações na membrana espermática prejudicando a fertilização e o desenvolvimento do embrião. O menor percentual de

embriões viáveis para sêmen sexado pode ser devido a danos nos espermatozoides os quais ocorre no processo de separação, diluição, centrifugação, coloração, raios laser e a exposição a alta pressão (SEIDEL e GARNER, 2002, p. 733; SEIDEL, 2003, p. 585), de forma a interferir na motilidade e no tempo de viabilidade espermática (SCHENK et al, 2006, p. 65).

Tabela 3 - Zigotos clivados e embriões produzidos, com respectiva porcentagem de embriões viáveis com o uso de sêmen convencional e sexado por touros da raça Nelore, e a diferença do valor-P em relação a produção individual de cada sêmen.

TOURO	ZIGOTOS CLIVADOS/ CONVENCIONAL	EMBRIÕES PRODUZIDO/ CONVENCIONAL	% DE EMBRIÕES VIÁVEIS	Nº DE ZIGOTOS CLIVADO/ SEXADO	EMBRIÕES PRODUZIDO/ SEXADO	% DE EMBRIÕES VIÁVEIS	VALOR P*
1	30	18	60,00	31	13	40,63	-
2	97	5	52,58	60	28	46,67	-
3	94	89	94,68	28	0	0,00	-
4	189	60	31,75	85	5	5,88	-
5	139	67	48,20	105	30	28,57	-
6	39	2	5,13	55	20	36,36	-
7	28	3	10,71	17	13	76,47	-
8	112	102	91,07	129	22	17,05	-
9	41	36	87,80	29	7	24,14	-
TOTAL	769	428	53,55	540	138	30,64	<0,0001

\*Nível de probabilidade associado a 5%.

É importante frisar que por mais que a taxa de conversão embrionária do sêmen sexado seja inferior ao sêmen convencional, isso não interfere na qualidade genética do embrião produzido e consequentemente não interfere na genética da prole, conforme afirma o estudo investigativo sobre o efeito do sêmen sexado na qualidade embrionária realizado por Bermejo-Alvarez et al. (2010, p. 3394) demonstrando que a produção de embriões viáveis com sêmen sexado e com sêmen convencional, ambos exibem os mesmos padrões para expressão gênica para o sexo-específica, portanto o estudo confirma que a utilização do sêmen sexado na produção de embriões *in vitro* não altera a qualidade genética do embrião.

## Conclusão

Ao utilizar sêmen sexado na produção de embriões *in vitro* percebe-se uma menor conversão embrionária em relação ao sêmen convencional, está baixa conversão pode estar relacionada ao processo de sexagem o qual expõe os espermatozoides a um processamento que pode danificar os gameta, em consequência disto observou-se nos resultados obtidos uma notória diferença na taxa de conversão embrionária com o uso do sêmen sexado de touros da raça Nelore, deixando em evidência a maior eficiência de conversão embrionária do sêmen convencional em relação ao sêmen sexado. Há a necessidade de mais estudos para conhecimento das possíveis causas e que haja melhoramento na eficiência do uso de sêmen sexado na PIVE em busca do retorno econômico.

## Conflitos de interesse

Não houve conflito de interesses dos autores.



## Contribuição dos autores

Eduarda Letícia da Silva Barrozo - ideia original, leitura e interpretação das obras e escrita; Vinício Araújo Nascimento e Marcia Dias - orientação, correções e revisão do texto.

## Referências bibliográficas

- ABS GLOBAL. Sobre a ABS: Nossa História. *In: Sobre a ABS - Genética bovina: Touros, sêmen e embriões*. [S. l.], 8 fev. 2000. Disponível em: <https://www.absglobal.com/br/sobre-a-abs/>. Acesso em: maio de 2022.
- ASBIA. **Index ASBIA Setembro 2019**. 2019. Disponível em: <http://www.asbia.org.br/wp-content/uploads/2019/11/INDEX-ASBIA-SETEMBRO-2019-1.pdf>. Acesso em: maio de 2022.
- ASBIA. **Coleta de sêmen bovino no Brasil cresceu mais de 100% no primeiro semestre, revela ASBIA**. [S. l.], 18 set. 2021. Disponível em: <http://www.asbia.org.br/coleta-de-semen-bovino-no-brasil-cresceu-mais-de-100-no-primeiro-semester-revela-asbia/>. Acesso em: maio de 2022.
- BERMEJO-ALVAREZ, P.; RIZOS, D.; RATH, D.; LONERGAN, P.; GUTIERREZ-ADAN, A. Sex determines the expression level of one third of the actively expressed genes in bovine blastocysts. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 8, p. 3394-3399, 2010. Disponível em: <https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.0913843107>. Acesso em: maio de 2022.
- BERTOLINI, M.; BERTOLINI, L.R. Advances in reproductive technologies in cattle from artificial insemination to cloning. **Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia**, v. 56, n. 3, p. 184-194, 2009. Disponível em: <https://www.redalyc.org/pdf/4076/407639221004.pdf>. Acesso em: maio de 2022.
- BLONDIN, P.; BEAULIEU, M.; FOURNIER, V.; MORIN, N.; CRAWFORD, L.; MADAN, P.; KING, W. A. Analysis of bovine sexed sperm for ivf from sorting to the embryo. **Theriogenology**, v. 71, n. 1, p. 30-38, 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X08006754>. Acesso em: maio de 2022.
- MELLO, R. R. C.; MELLO, M. R. B.; SOUSA, S. L. G.; FERREIRA, J. E. Parâmetros da produção *in vitro* de embriões da raça Sindi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 10, p. 17773-17779, 2016. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pab/a/sxDBNz5WQTcPdVTs3kmMxMC/?lang=pt&format=html>. Acesso em: maio de 2022.
- MERTON, J. S.; DE ROOS, A. P. W.; MULLAART, E.; DE RUIGH, L.; KAAL, L.; VOS, P. L. A. M.; DIELEMAN, S. J. Factors affecting oocyte quality and quantity in commercial application of embryo technologies in the cattle breeding industry. **Theriogenology**, v. 59, n. 2, p. 651-674, 2003. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X02012463>. Acesso em: maio de 2022.
- MOCE, E.; GRAHAM, J. K.; SCHENK, J. L. Effect of sex-sorting on the ability of fresh and cryopreserved bull sperm to undergo an acrosome reaction. **Theriogenology**, v. 66, n. 4, p. 929-936, 2006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X0600135X>. Acesso em: maio de 2022.
- SCHENK, J. L.; SUH, T. K.; SEIDEL, JR., G. E. Embryo production from superovulated cattle following insemination of sexed sperm. **Theriogenology**, v. 65, n. 2, p. 299-307, 2006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X05002074>. Acesso em: maio de 2022.
- SEIDEL JR., G. E. Economics of selecting for sex: the most important genetic trait. **Theriogenology**, v. 59, n. 2, p. 585-598, 2003. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X02012426>. Acesso em: maio de 2022.

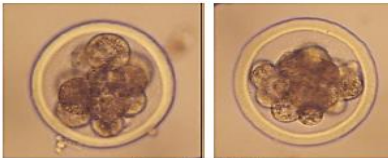
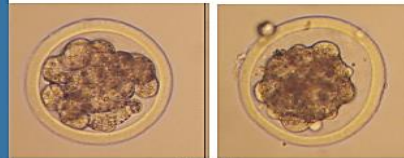
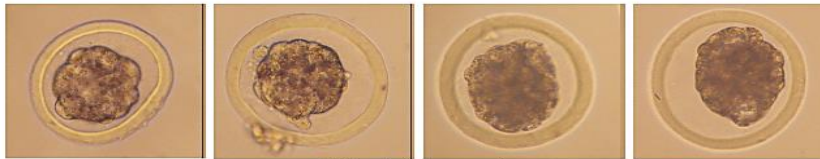
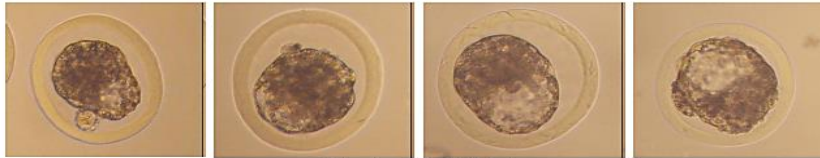

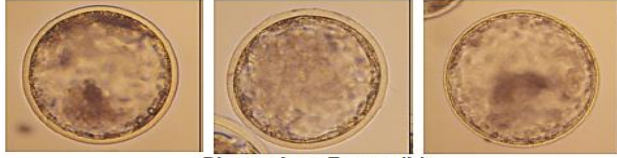
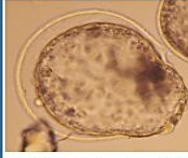
SEIDEL JR., G. E.; GARNER, D. L. Current status of sexing mammalian spermatozoa. **Reproduction**, v. 124, n. 6, p. 733-743, 2002. Disponível em: <https://europepmc.org/article/med/12537000>. Acesso em: maio de 2022.

STRINGFELLOW, D. A.; SEIDEL, S. M. **Manual da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões**. IETS, p. 112-113, Illinois, 1998.

TRIGAL, B.; GÓMEZ, E.; CAAMAÑO, J. N.; MUÑOZ, M.; MORENO, J.; CARROCERA, S.; DIEZ, C. *In vitro* and *in vivo* quality of bovine embryos *in vitro* produced with sex-sorted sperm. **Theriogenology**, v. 78, n. 7, p. 1465-1475, 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X12003676>. Acesso em: maio de 2022.

ANEXO 1

Classificação morfológica de embriões segundo o Manual da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões (IETS). Fonte: STRINGFELLOW e SEIDEL (1998).

 <p><b>8 – 12 Células</b> Código IETS: 2</p>	 <p><b>Mórula</b> Código IETS: 3</p>	<p><b>Mórula</b> <b>Fase esperada:</b> dias 5,5-6,0 do ciclo <b>Características:</b> Blastômeros ainda evidentes, porém não é mais possível determinar número exato. Massa de células ocupa maior parte do espaço dentro da zona pelúcida. Período caracterizado pelo fim da fase de celularização e da transição materno zigótica e início do processo de compactação.</p>
 <p><b>Mórula Compacta</b> Código IETS: 4</p>		<p><b>Mórula Compacta</b> <b>Fase esperada:</b> dias 6,0 a 6,5 do ciclo <b>Características:</b> Compactação torna a massa de células coesa, dificultando individualização dos blastômeros, e causa retração do embrião em relação à zona pelúcida, com aumento do espaço perivitelínico. Formação de junções de adesão e de oclusão entre as células, preparando o embrião para a formação da blastocèle.</p>
 <p><b>Blastocisto Inicial</b> Código IETS: 5</p>		<p><b>Blastocisto Inicial</b> <b>Fase esperada:</b> dias 6,5 a 7,0 do ciclo <b>Características:</b> Blastômeros criam gradiente osmótico que atrai água para o espaço intercelular, iniciando a formação de uma cavidade denominada blastocèle. Perda da totipotência, com a formação de duas populações celulares distintas: o trofoblasto, que reveste a blastocèle, e a massa celular interna (MCI), lateral à blastocèle.</p>
 <p><b>Blastocisto</b> Código IETS: 6</p>		<p><b>Blastocisto</b> <b>Fase esperada:</b> dias 7,0 a 7,5 do ciclo <b>Características:</b> Blastocèle aumenta de tamanho, tornando-se proporcionalmente maior que a massa celular interna e ocupando gradualmente todo o espaço perivitelínico. Trofoblasto sofre diferenciações morfológicas e funcionais associadas à captação de nutrientes, enquanto as células da MCI mantêm potencialidade.</p>
 <p><b>Blastocisto Expandido</b> Código IETS:</p>	 <p><b>Blastocisto Eclodido</b> Código IETS: 8</p>	<p><b>Blastocisto Expandido</b> <b>Fase esperada:</b> dias 7,5 a 8,0 do ciclo <b>Características:</b> Expansão da blastocèle causa aumento de tamanho do embrião e progressiva redução na espessura da zona pelúcida (ZP). Maior desenvolvimento do trofoblasto, a MCI é visível dependendo da posição do embrião. Rompimento da ZP caracteriza a eclosão, com o embrião entrando em contato direto com os tecidos maternos.</p>

Recebido em 1 de julho de 2022  
Retornado para ajustes em 25 de julho de 2022  
Recebido com ajustes em 8 de agosto de 2022  
Aceito em 15 de agosto de 2022