

Sexta-Feira, 07 de Junho de 2002

BIOTÉCNICAS DA REPRODUÇÃO E O IMPACTO NA PRODUÇÃO DE CAPRINOS E OVINOS

Dra. Alice Andrioli Pinheiro
EMBRAPRA - Caprinos



SUMÁRIO

O crescimento expressivo da Caprino-Ovinocultura Nacional está transformando o cenário de nossos sistemas produtivos e tem requerido novos conhecimentos técnicos e gerenciais, nas quais as instituições públicas e privadas vêm desempenhando um papel de fundamental importância. Avanços tecnológicos para os seus diversos segmentos repercutem no aumento da produção animal, sendo que as biotecnologias reprodutivas e o melhoramento genético têm atuação direta na obtenção de maior número de animais de alta qualidade.

As biotécnicas da reprodução são fundamentais no incremento da rentabilidade do agronegócio de pequenos ruminantes, sendo que a inseminação artificial e a transferência de embriões são tecnologias que conferem a maximização do potencial reprodutivo de reprodutores e matrizes de alto valor zootécnico. Ressalta-se, ainda, a grande contribuição da criopreservação de germoplasma facilitando o intercâmbio Nacional e Internacional de material genético, além da preservação de raças nativas.

Porém o uso de tecnologias reprodutivas deve ser bem avaliado quanto ao seu custo benefício, dentro de cada tipo de exploração, condições de estrutura e organização da propriedade e estar atentos ao estado sanitário e nutricional do rebanho, que são condições imprescindíveis para a implantação dessas biotecnologias.

Há grandes perspectivas de novas tecnologias reprodutivas no cenário mundial como a clonagem, a sexagem de sêmen e embrião, criopreservação de ovócitos e o uso de animais transgênicos, dentre outras, sendo que as unidades de referência técnicas federais e estaduais, que atuam na pesquisa desempenham papel primordial neste avanço científico.

Salienta-se que as legislações visando o controle de enfermidades, nem sempre acompanham os avanços científicos e biotecnológicos, de forma que, o impacto econômico resultante da entrada de novas enfermidades, pode ser catastrófico para o País, alertando-se para a necessidade de adoção de medidas de controle e a maior atuação das barreiras sanitárias.

INTRODUÇÃO

O fortalecimento do sistema agro-industrial da Caprino-Ovinocultura nacional demanda crescentes investimentos e avanços tecnológicos para os seus diversos segmentos, ou seja, produção, processamento dos seus produtos e comercialização. Dentre os diferentes setores que repercutem no aumento da produção animal, as biotecnologias reprodutivas e o melhoramento genético têm atuação direta na obtenção de maior número de animais de alta

VI Seminário Nordestino de Pecuária – PECNORDESTE 2002
III Semana da Caprino-Ovinocultura Brasileira
VI Feira de Produtos e de Serviços Agropecuários

qualidade genética e conseqüentemente de seus produtos, sendo que um rebanho constituído de animais geneticamente mais produtivos, terá condições de diminuir o seu número efetivo de animais, reduzindo os custos da propriedade, com repercussão no preço dos produtos gerados.

Pesquisas sobre biotecnologias reprodutivas demonstram a crescente vantagem no uso destas técnicas para o aumento na produção. Práticas de manejo reprodutivo, sincronização de estro, indução de parto e diagnóstico de prenhez, podem desempenhar um importante papel na organização e controle do rebanho, com conseqüências diretas no seu desfrute. Outras tecnologias, como a inseminação artificial (IA), a transferência de Embrião (TE), permitem a maximização reprodutiva de machos e fêmeas, explorando assim seu potencial biológico ao extrapolar suas possibilidades naturais, e contribuindo para a disseminação de animais geneticamente superiores. Outras tecnologias reprodutivas como a fecundação *in vitro* (FIV), a clonagem e a sexagem de gametas têm sido estudadas com grandes perspectivas futuras.

Quanto ao uso de tecnologias reprodutivas já validadas deve ser estudado o custo benefício destas para cada tipo de exploração e condições de estrutura e organização da propriedade, bem como o estado sanitário e nutricional do rebanho, nos quais serão implantadas, visto que um rebanho que não esteja bem assistido, nestas duas áreas, não responderá adequadamente a qualquer tecnologia reprodutiva que se queria introduzir. Somando-se a isto, também ressalta-se a necessidade da atenção à qualidade genética dos reprodutores e matrizes e o controle zootécnico do rebanho (escrituração zootécnica), sem os quais não haverá sucesso na exploração.

Pouquíssimos produtores fazem o acompanhamento correto dos seus níveis de produção, sendo que o único referencial de seleção genética, passa a ser os animais premiados em exposições. Observa-se, também, o aumento na importação de animais de raças especializadas para corte, as quais têm sido importadas por altos preços e comercializadas por valores bem acima do mercado interno, encarecendo muito o custo da produção, além do risco de introdução de novos patógenos no País, vistos que as exigências de importação são sanitariamente insatisfatórias.

Dentro do panorama do crescimento econômico mundial a pesquisa e a implementação de biotécnicas da reprodução é de suma importância no aumento do desfrute e da rentabilidade do agronegócio de pequenos ruminantes, obtendo-se animais geneticamente superiores quanto a produtividade, a fertilidade e a resistência a doenças. A pesquisa deve sempre estar um passo a frente da demanda dos proprietários por novas tecnologias e, dentre estas, estão em desenvolvimento a clonagem, a sexagem de sêmen e embrião, novos métodos de criopreservação de embriões e ovócitos e o uso de animais transgênicos, dentre outras. Desta forma, as unidades de referência técnica federais e estaduais, que atuam na pesquisa, desenvolvimento, validação e transferência das tecnologias geradas desempenham papel primordial no crescimento da Caprino-Ovinocultura.

Quanto a transferência de tecnologias é importante a realização de cursos para formação de multiplicadores visando a capacitação técnica e gerencial de todos os integrantes da cadeia produtiva. Devendo-se reforçar, que para o sucesso na adoção de qualquer prática ou tecnologia reprodutiva, da mais simples a mais complexa, exige-se algumas condições mínimas como adequada infra-estrutura na propriedade, escrituração zootécnica, controle sanitário, nutricional e adoção de práticas de manejo, pois sem um rebanho bem estruturado, nenhuma tecnologia reprodutiva vai obter o resultado esperado, constituindo em perda de tempo e grande prejuízo econômico.

Procura-se neste trabalho, enfatizar as contribuições e a eficiência de resultados, que as biotecnologias reprodutivas podem oferecer ao agronegócio de pequenos ruminantes. Outros

VI Seminário Nordestino de Pecuária – PECNORDESTE 2002
III Semana da Caprino-Ovinocultura Brasileira
VI Feira de Produtos e de Serviços Agropecuários

aspectos são também relatados, quanto a importância do aspecto sanitário frente aos crescentes avanços das biotecnologias reprodutivas e a propagação de material genético.

MANEJO REPRODUTIVO

Dentro do manejo reprodutivo de caprinos e ovinos, a estação de monta propicia grandes benefícios econômicos, pois visa a concentração de cobrições ou na IA, em determinadas épocas do ano e, conseqüentemente, de partos, períodos de lactação, desmames, o que possibilita a adequada disponibilização de produtos para o mercado consumidor.

Dentre as vantagens da estação de monta, ressalta-se vários fatores como: maior controle zootécnico do rebanho, adequado fornecimento nutricional em função do estado fisiológico dos animais, propiciando adequada assistência às parturientes e às crias, facilitando o manejo das crias do nascimento ao desmame, permitindo maior controle reprodutivo e sanitário do rebanho, maximizando a eficiência reprodutiva, além de facilitar outras práticas de manejo reprodutivo como a separação por sexo, a castração e a seleção de matrizes e reprodutores e permitindo a comercialização de produtos (leite, carne e pele) e de grupos uniformes de animais quanto à idade e desenvolvimento ponderal, segundo a demanda do mercado. Todas essas vantagens levam sem dúvida a benefícios econômicos ao produtor de forma rápida e precisa.

No entanto, alguns fatores devem ser observados para o sucesso desta prática como: o clima, a disponibilidade de alimentos, o estado nutricional e sanitário do rebanho, o tipo de exploração (extensivo ou intensivo), o objetivo da exploração (carne ou leite) e a demanda do mercado.

INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL E CRIOPRESERVAÇÃO DE SÊMEN

A inseminação artificial (IA), uma das primeiras biotecnologias desenvolvidas, está disponível aos caprinocultores e constitui-se, sem dúvida, a ferramenta reprodutiva mais expressiva para o incremento do melhoramento genético do rebanho. Dentre as vantagens desta técnica estão a queda dos custos em relação à manutenção de reprodutores nas fazendas, a possibilidade do reprodutor ser utilizado em um número maior de fêmeas, proporcionando o uso de reprodutores geneticamente superiores por diversos criadores, incluindo aqueles de poder aquisitivo baixo, acelerando o ganho genético dos rebanhos nacionais, permitindo a utilização de reprodutores impossibilitados de realizar a monta (fatores não genéticos) e a manipulação e armazenamento de material genético, inclusive com o intuito de preservação de raças.

Dentre os requisitos específicos para a implantação da IA numa propriedade estão o investimento para compra de equipamentos, pessoal treinado e comprometido e a adequada avaliação dos reprodutores a serem utilizados (Tabela 1).

Tabela 1 - Características andrológicas de pequenos ruminantes domésticos

	Testículos normais	Disfunção
Forma e tamanho	Ovalados, 4-9 cm de comprimento	Menor (hipoplasia, atrofia)
Simetria	Simétricos	Assimétricos (orquites, hipoplasia unilateral, criptorquidismo)
Consistência	Firme, elástica	Flácida (degeneração), dura (fibrose)
Mobilidade	Ampla	Aderência
Temperatura	Abaixo da corporal	Elevada (orquite)
Sensibilidade	Não há	Sensível (orquite)
Perímetro escrotal	20 – 30 cm	Menor (hipoplasia ou baixa produção espermática)

VI Seminário Nordestino de Pecuária – PECNORDESTE 2002
III Semana da Caprino-Ovinocultura Brasileira
VI Feira de Produtos e de Serviços Agropecuários

O sucesso da IA está baseada na eficiência de todo processo desde a seleção e o preparo do reprodutor, passando pelo manejo adequado deste durante a coleta, o adequado processamento de sêmen, a criopreservação, a estocagem do sêmen, o preparo e cuidados com as matrizes, a IA propriamente dita e os cuidados adequados das fêmeas inseminadas, além disso variáveis ligadas ao macho e às técnicas de criopreservação podem resultar em diferenças na qualidade do sêmen.

Em caprinos, a IA tem sido realizada com sucesso, com grandes índices de fecundação intra-uterina. Em ovinos, a IA intra-uterina via cérvix é mais difícil devido a diferenças anatômicas, sendo, atualmente, mais utilizada a inseminação por laparoscopia, que encarece e dificulta a prática de IA. A IA cervical em ovinos apresenta baixa taxa de fertilização, portanto, estudos na Embrapa Caprinos, já estão sendo iniciados visando a fertilização intra-uterina em ovinos através das cérvix.

As taxa de fertilidade de cabras inseminadas durante o estro natural é variável, segundo o estudo de diferentes autores (Tabela 2), porém a taxa média de 70% de fecundação é considerado um bom índice para IA.

Tabela 2 - Fertilidade ao parto de cabras inseminadas durante o estro natural

Duração da estação de monta (dias)	Horário IA (hora)	Fertilidade (%)	Fonte
60	6-12	68,6	González Stagnaro, 1975
-	12-18	79,7	França, 1981
49	12-18	67,7	Simplício e Machado, 1991
49	12-18	83,3	Azevedo, 1996

A tecnologia de sêmen caprino e ovino compreende uma série de etapas, que vai desde a colheita, análise e o processamento final, sendo que o sêmen pode ser usado para inseminação artificial em três formas: fresco (puro ou diluído); resfriado (4°C) ou congelado e preservado em nitrogênio líquido.

A criopreservação de sêmen caprino e ovino apresenta grandes vantagens, pois este pode ser estocado em grande quantidade, por tempo indeterminado, sendo importante na preservação de material genético de excelentes reprodutores, e, também, na preservação de raças nativas em perigo de extinção. A criopreservação do sêmen possibilita o seu comércio nacional e internacional, contribuindo para a diversificação genética dos rebanhos, com vantagens evidentes de ordem prática, econômica e sanitária quando comparada ao comércio de reprodutores.

Somando a estas vantagens, doses de sêmen podem ser previamente testadas quanto a qualidade, potencial de fertilidade (espermiograma) e presença de patógenos por testes laboratoriais, antes de serem utilizados no rebanho, garantindo assim a integridade sanitária e econômica da propriedade

SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO

Consiste na indução ou sincronização do estro acompanhada de ovulação, com o uso de hormônios, da luz ou pelo efeito macho. Estes métodos de manipulação do ciclo estral têm a vantagem de reduzir a utilização de mão de obra utilizada na observação do estro e concentrar um elevado número de fêmeas em estro, num curto intervalo de tempo, propiciando a otimização de mão de obra para a fertilização das fêmeas, seja por monta natural ou inseminação artificial, ou, ainda, para serem utilizadas em programas de transferência de embriões.

VI Seminário Nordestino de Pecuária – PECNORDESTE 2002
III Semana da Caprino-Ovinocultura Brasileira
VI Feira de Produtos e de Serviços Agropecuários

A sincronização do estro, das fertilizações é consequentemente, dos partos e dos desmames, contribuem nos manejos nutricional, sanitários e reprodutivo, além de permitir a disponibilização dos produtos destes animais de acordo com a época do ano e a demanda do mercado. Além disso, o controle do estro e da ovulação das doadoras e receptoras é de fundamental importância para a implementação, com sucesso, de um programa de transferência de embriões.

Entretanto, os métodos de controle do estro que utilizam hormônios aumentam o custo, e os seus resultados, quanto a fertilidade, são muito variáveis, embora os tratamentos hormonais sejam eficientes na pré determinação do momento de IA.

Machado et al. (1997) observaram que o menor gasto com a utilização da IA ocorreu com o uso do método de sincronização de estro com a prostaglandina (US\$5,67/cabra) e, surpreendentemente, o sistema de IA com estro natural foi mais oneroso, atingindo o custo de US\$997,50 por lote de cem fêmeas, provavelmente devido ao gasto com a mão de obra, sugerindo-se o treinamento de técnicos da própria fazenda para serem inseminadores, o que permitirá baratear este custo (Tabela 3).

O uso de hormônios reduz os gastos com mão de obra, por sincronizar os trabalhos de IA, e esta redução pode até superar os custos de aquisição dos hormônios, servindo de estímulo a técnica de sincronização de estro (Machado et al., 1997)

Os índices de fertilidade obtidos após a sincronização de estro estão abaixo do estro natural (Machado et al., 1997) (Tabela 4), sugerindo-se, então, que sejam feitos mais estudos sobre a fisiologia reprodutiva de pequenos ruminantes. Observa-se que é muito grande a variação observada por diversos autores, quanto as respostas ao estro sincronizado, e isto, se deve a vários fatores como clima, latitude, nutrição sanidade, variação individual, raça, idade, manejo, estresse dentre outros.

Tabela 3 - Custos (US\$) da utilização de diferentes protocolos para o emprego da inseminação artificial em caprinos (novembro 1994).

Método ¹	Sêmen ²	Hormônio	Veterinário	Inseminador	Ajudante	Distância (Km)	TOTAL
Estro natural	153,6	0,0	50,0	452,5	334,2	7,2	997,5
Implantes norgestomet, hCG e cloprostenol	105,2	370,0	50,0	95,4	13,6	14,4	648,7
Esponjas MAP, hCG e cloprostenol	105,2	429,0	50,0	72,9	6,8	14,4	678,4
Esponjas MAP, eCG e cloprostenol	105,2	355,0	50,0	67,7	6,8	14,4	599,1
<u>Cloprostenol duas aplicações</u>	105,2	314,0	50,0	72,8	13,6	10,8	566,7

Fonte: Machado et al., 1997

1 - Com base num rebanho de 100 matrizes.

2 - 146 doses para Estro natural e 100 doses para os demais tratamentos

Tabela 4 - Performance biológica e estimativa de custos de alguns protocolos para uso da inseminação artificial em caprinos.

Método	Fertilidade ¹		Custo (US\$comercial, nov.94)	
	Parto (%)	Prolificidade	Por parto ²	Por cabrito ³
Estro natural	67,7	1,80	14,73	8,18
Implantes norgestomet, hCG e cloprostenol	46,5	2,26	13,95	6,17
Esponjas MAP, hCG e cloprostenol	37,5	1,50	18,09	12,06
Esponjas MAP, eCG e cloprostenol	34,1	1,30	17,57	13,51
<u>Cloprostenol duas aplicações</u>	33,9	1,33	16,72	12,57

Fontes: Machado et al., 1997

1 - Simplício; Machado, 1991a, 1991b, 1991c

2 - (1% de partos x custos = custo por parto)

3 - (custo por parto/prolificidade = custo por cabrito)

VI Seminário Nordestino de Pecuária – PECNORDESTE 2002
III Semana da Caprino-Ovinocultura Brasileira
VI Feira de Produtos e de Serviços Agropecuários

A indução do parto em caprinos também é uma forma de agrupamento de um evento reprodutivo, que consiste na aplicação de cloprostenol entre o 142º e o 146º dia de prenhez, programando a hora aproximada da ocorrência do parto, favorecendo a assistência à matriz e às crias. No caso de rebanhos contaminados pelo vírus da Artrite Encefalite Caprina – CAE, esta é uma medida de controle imprescindível, visto que o colostro e o leite são os principais veículos de transmissão do vírus.

DIAGNÓSTICO PRECOCE DE PREENHEZ

O diagnóstico precoce de prenhez oportuniza ao produtor o agrupamento das fêmeas em função do estado fisiológico, retornando à reprodução as fêmeas vazias ainda dentro da estação de monta e favorecendo o manejo das fêmeas prenhes. Quando se implementa um programa de reprodução avançada, esta tecnologia é de suma importância, não apenas no aspecto zootécnico mas também, no tocante a avaliação dos custos em tempo hábil.

Na literatura técnico científica disponível constam de vários métodos de diagnóstico de prenhez aplicáveis aos pequenos ruminantes. Entretanto, é reduzido o número dos métodos que permitem o diagnóstico precoce e alguns são poucos práticos, a exemplo a dosagem de progesterona (leite ou sangue), que além de exigirem equipamentos sofisticados e mão-de-obra de alta qualificação técnica, é de alto custo. O uso do ultra-som, por outro lado, favoreceu o desenvolvimento de métodos de diagnóstico de prenhez nos pequenos ruminantes domésticos, que afora serem práticos, seguros e eficazes permitem o diagnóstico já a partir dos 21 dias após o último estro seguido de fecundação (Salles et al., 1997), além de determinar o número de fetos. Porém, o custo do aparelho é elevado, e exige o treinamento de um veterinário para realizar o diagnóstico.

A Embrapa - Centro Nacional de Pesquisa em Caprinos, num trabalho em parceria com o Centro Nacional de Instrumentação Agropecuária desenvolveram um detector de prenhez para pequenos ruminantes (DPPR80), (Andrioli et al., 1997), que permite fazer o diagnóstico de prenhez entre 30 a 60 dias após a fertilização (Figura 1). Este aparelho é de baixo custo, fácil manuseio podendo ser realizado por um técnico após rápido treinamento e prática, além de ser portátil podendo ser facilmente transportado e utilizado a campo.

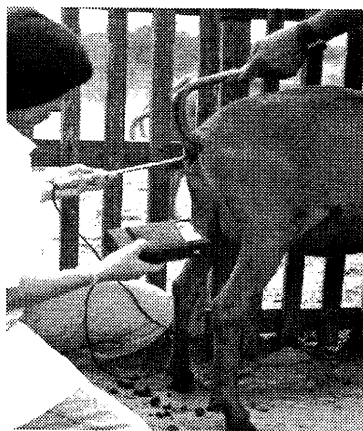


Figura 1 - Detector de prenhez para pequenos ruminantes (DPPR80)

BIOTECNOLOGIA DE EMBRIÕES

A transferência de embriões baseia-se na indução ou sincronização do estro e superovulação das doadoras, seguida da cobertura ou inseminação artificial e da colheita dos embriões através da lavagem uterina, preferencialmente, entre o sexto e sétimo dia após o início do estro. Os embriões colhidos são avaliados e aqueles viáveis são inovulados em receptoras sincrônicas, a fresco ou após congelamento/descongelamento. Os embriões criopreservados podem ser estocados por longo período.

A TE favorece a organização da unidade produtiva, permite a multiplicação rápida de fêmeas de alto valor zootécnico, favorecendo os trabalhos de melhoramento genético, e permite reduzir o intervalo entre gerações, por possibilitar a obtenção de embriões de fêmeas doadoras jovens, até mesmo, pré-púberes.

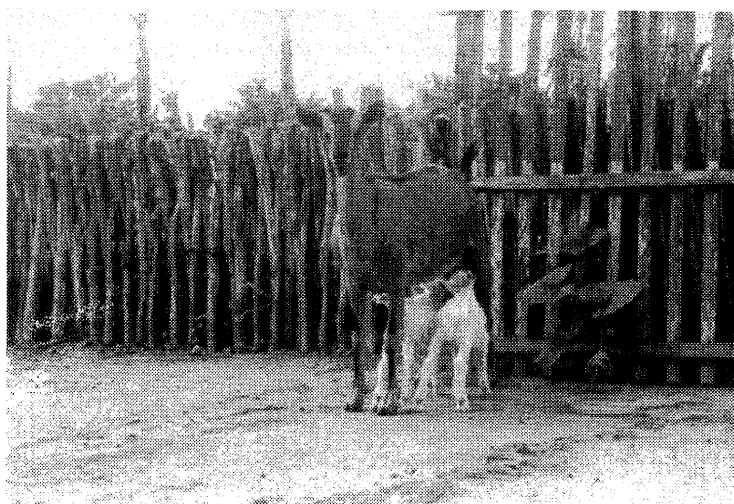


Figura 2 - Receptora caprina com duas crias da raça Sanem oriundas de TE

A criopreservação de embriões possibilita a importação e exportação de embriões sendo esta forma de intercâmbio de material genético, mais segura sanitariamente além de ser prática e econômica quando comparado com o comércio de animais vivos. A criopreservação também possibilita a transferência de embriões para fêmeas em estro natural, sem a necessidade de sincronização artificial do estro e da ovulação da receptora, a preservação de embriões colhidos excedentes ao número de receptoras sincronizadas, a adequação da época de partos, independentemente da data da colheita dos embriões. Esta técnica tem também um papel fundamental de preservação da genética de várias raças ou grupos genéticos formando bancos de germoplasma de raças nativas ameaçadas de extinção, a qual ainda não dispõe de estudo de seu patrimônio genético, podendo ser de grande interesse em cruzamento futuros.

A propriedade que pretende implantar um programa de TE deve ser bem estruturada, e já deve estar adotando em seu rebanho outras tecnologias reprodutivas mais acessíveis, além de estar consciente dos pré-requisitos necessários como adequada seleção das doadoras, das receptoras e dos reprodutores. Também, deve estar adotando adequado manejo sanitário e nutricional, dispor de mão de obra qualificada, equipamentos e quantificar o custo benefício que terá que investir na compra de hormônios, meios, materiais e medicamentos.

Em caprinos, os extratos hipofisários e o hormônio folículo estimulante (FSH), oferecem respostas consistentes no tocante a taxas de ovulação e à obtenção de um maior número de embriões viáveis (Baril et al., 1992; Traldi et al., 1995), porém o protocolo de uso

do FSH (seis a oito aplicações) não é prático e contribui para estressar os animais, o que tem levado a busca de alternativas. Dentre estas, têm sido avaliadas, a aplicação única de FSH associada a uma baixa dose de eCG, em caprinos (Batt et al., 1993) e o emprego, também, de uma única aplicação de FSH diluído em veículo a base de polivinilpirrolidona, com taxa de ovulação de $8,6 \pm 4,8$ e de recuperação embrionária de 68,1%, em ovinos (Dattena et al., 1994).

Um dos fatores limitantes à transferência de embriões em caprinos é a alta taxa de regressão prematura dos corpos lúteos acarretando a baixa taxa de recuperação de embriões viáveis (Soares et al., 1996; 1998; Traldi et al., 1996). Este fenômeno obrigou o uso de drogas anti-prostaglandínicas como o flunixin meglunine que impede a regressão precoce de corpos lúteos, porém a aplicação desta droga, além de ser trabalhosa, onera o custo do programa de TE em caprinos.

O método de colheita que permite com mais frequência obter 100% de recuperação de embriões em caprinos, ainda é a laparotomia (Andrioli, 1999). No entanto, é interessante o desenvolvimento de técnicas menos invasivas para colheita e transferência de embriões, pois as repetidas colheitas cirúrgicas, no mesmo animal, reduzem as taxa de fertilidade e de recuperação de embriões em decorrência do desenvolvimento de aderências no sistema genital (Andrioli, 1999). Dessa forma a colheita de embriões por laparoscopia e, principalmente, pela via transcervical, tendem a ampliar o uso da TE em caprinos e a última deve tornar-se a técnica de preferência para a espécie (Andrioli, 1999).

No Brasil, trabalhando com cabras Canindé, mestiças e SRD (Oliveira 1992) e Moxotó (Andrioli, 1993), descrevem taxas de recuperação de embriões, pela via transcervical, de 30,6% e 57,1%, nessa ordem. Pereira et al. (1998), relatam taxa de recuperação de embriões de 91% com colheita via transcervical, acompanhado de tratamento com ocitocina e prostaglandina, utilizando no mínimo 12 lavagens uterinas por cabra.

Andrade et al., (2000) desenvolveram uma técnica semi-transcervical de colheita de embriões em caprinos obtendo-se em cinco cabras uma média de 9,4 estruturas/doadora, com 61,0% na taxa de recuperação de embriões e o percentual médio de recuperação de líquido injetado de 88,8%, indicando o potencial desta nova técnica que poderá ser melhorado com a prática. Salles (2001a) testou uma técnica de colheita de embriões por via transcervical com circuito fechado, na tentativa de torná-la mais prática e asséptica, obtendo uma média de 7,8 estruturas por doadora. Ressalta-se, que nas técnicas por via transcervical há a possibilidade de repetição do procedimento, mais de uma vez, na mesma doadora, pois como não há manipulação cirúrgica do útero, a formação de aderências é reduzida além do tempo de colheita ser bem menor que nas outras técnicas o que reduz o estresse dos animais (Andrioli, 1999), além disso, a técnica prescinde o uso de equipamentos sofisticados como o laparoscópio, o que torna a técnica mais barata.

A técnica de eleição para a inovulação, é a laparoscopia permitindo a transferência dos embriões para a junção útero-tubárica e minimizando a possível ocorrência de aderências. Salles et al. (1996) descrevem a semi-laparoscopia como técnica alternativa e segura para a inovulação em caprinos. Baril (1989) observaram maior porcentagem de sobrevivência embrionária pós inovulação por laparoscopia de sobrevivência embrionária pós inovulação por laparoscopia em comparação a laparotomia.

O sucesso de um programa de transferência de embriões encontra-se na dependência de vários fatores como a qualidade e número de embriões a serem transferidos, o local de deposição dos embriões, o tempo transcorrido entre a colheita ou a descongelação e a transferência dos embriões, a sincronização do estágio fisiológico entre a doadora e a receptora e a resposta ovulatória da receptora. Ainda, segundo Thibie; Nibart (1992) a condição das receptoras à transferência dos embriões, principalmente, no tocante à nutrição e

saúde, é responsável por 50,0% da porcentagem de prenhez, enquanto os 50,0% restante são diretamente dependentes da qualidade embrionária.

Quanto a criopreservação de embriões, em geral, ainda, é observado que a sobrevivência embrionária obtida pelo uso do método clássico é superior aquela alcançada com a vitrificação (Salles et al. 1997). Contudo, Traldi et al. (1999), descrevem 57,9% de partos e média de 0,9 crias por receptora, após usarem embriões caprinos vitrificados e transferidos por mini-laparotomia. Também, Simplício et al. (1999), descrevem resultado positivo de prenhez por ultrassografia aos 45 dias após a inovulação de embriões vitrificados, descongelados e reidratados na própria palheta e transferidos diretamente ao útero.

Desde 1995, há vários estudos reportando o sucesso na criopreservação de embriões ovinos, resultando no nascimento de crias. E Baril et al. 2001, relatam taxa de prenhez utilizando embriões ovinos vitrificados acima de 75,0% e taxa de sobrevivência embrionária de 53,0%.

A técnica bissecção de embriões pode-se aumentar o número de crias após colheita, ao permitir a transferência de um embrião na forma de dois hemi-embriões gerando dois indivíduos idênticos (gêmeos monozigóticos). Esta técnica é especialmente importante no uso em pesquisa que necessita de animais idênticos geneticamente, solucionando a problemática da variação individual. No entanto, a técnica requer equipamentos de alto custo (micromanipuladores), destreza em dividi-los, a qualidade e o estágio de desenvolvimento do embrião adequado ao processo, sendo atualmente uma tecnologia apenas disponível nos grandes centros de pesquisa, além da problemática quanto a ruptura da zona pelúcida que aumenta o risco de transmissão de patógenos.

Salles et al., (2001b) testou uma técnica simples de micromanipulação de embrião, a qual consistiu no uso de uma lâmina de barbear fixada a uma pipeta Pasteur, onde nove pares de hemi-embriões foram transferidos para nove fêmeas receptoras. Destas, duas fêmeas, levaram a prenhez a termo, dando uma delas origem a duas gêmeas idênticas e outra a um cabrito. Possivelmente, estas sejam as primeiras crias caprinas nascidas no Brasil a partir da técnica de bipartição de embriões.

BIOTECNOLOGIAS REPRODUTIVAS EM APRIMORAMENTO E PESQUISA

Os primeiros trabalhos com a fecundação *in vitro* (FIV) em mamíferos datam da década de 50, sendo utilizada a espécie leporina como modelo experimental. Após esse estágio, a FIV passou a ser empregada em outras espécies, destacando-se a espécie bovina, e em ovinos e caprinos os primeiros relatos de obtenção de produtos (Moor; Trounson, 1977) e Hanada (1985), respectivamente. A técnica de fecundação *in vitro* consta de três etapas: maturação de ovócitos, fecundação de ovócitos maduros com espermatozoides capacitados e cultivo de embriões. Ovários obtidos em abatedouro são a principal fonte de ovócitos para as técnicas de FIV, que também podem ser obtidos por aspiração dos folículos ovarianos em animais vivos em repetidas coletas (Ptak et al. 1999). Amoah; Gelaye (1997) relatam que embriões têm sido produzidos pela técnica de maturação, cultura e fecundação *in vitro* com sucesso. Porém a FIV ainda se encontra em fase de estudos requerendo mais pesquisas quanto a compreensão dos mecanismos moleculares e celulares que envolvem o desenvolvimento de embriões.

A técnica de FIV é particularmente importante para os trabalhos com animais transgênicos, clonagem, inserção de gametas e de genes, estando estes experimentos em fase de estudos, assim como a sexagem de sêmen. Já os trabalhos com sexagem de embriões, com o uso da técnica de reação em cadeia da polimerase – PCR, são promissores com bons resultados na espécie bovina, e com grande utilidade quando o agronegócio se destina tanto a

carne, a qual se deseja maior número de machos e quando se procura a maior produção de matrizes leiteiras.

CONTRIBUIÇÕES DAS BIOTÉCNICAS REPRODUTIVAS AO MELHORAMENTO GENÉTICO E NA CONSERVAÇÃO DE GERMOPLASMA

As biotécnicas reprodutivas representam um importante instrumento nos programas de melhoramento genético, visto que tanto a IA como a TE aumentam significativamente, o número de crias a qual se deseja selecionar ou estudar, além de favorecer a diminuição do intervalo entre gerações. Muitos estudos têm sido feitos com genética, não só para aumentar a produção como para se estudar grupos raciais mais resistentes a doenças como é o caso do estudo de Mamdonnet et al., (2001) os quais buscaram raças mais resistentes aos nematódeos gastrointestinais.

A criopreservação de germoplasma tem importante papel na conservação dos recursos genéticos, resguardando a biodiversidade genética de grupos de animais, principalmente aqueles em perigo de extinção. A identificação fenotípica juntamente com o mapeamento genômico pode servir futuramente como ferramentas para o melhoramento genético, e com os grandes avanços que estão ocorrendo na área de biologia molecular, será possível a introdução de genes de grande interesse como genes que conferem aos animais maior resistência a doenças, aumento na produção, ou aumento na fertilidade dentre outros.

No Brasil dentre as raças caprinas selecionadas pelo programa Brasileiro de Conservação de Recursos Genéticos, gerenciado pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, estão a Canindé, Gurguéia, Moxotó, Marota e Repartida, e dentre as raças ovinas o Crioulo lanado (Mariante; Egito, 2002).

BIOTÉCNICAS REPRODUTIVAS E O RISCO DE DISSEMINAÇÃO DE PATÓGENOS

O impacto econômico resultante da entrada de novas enfermidades ou novas cepas mais virulentas pode ser catastrófico em um País, desta forma a adoção de medidas de controle de enfermidades e a maior atuação das barreiras sanitárias são de vital importância para a economia de um País (Thibier, 2001).

A natureza de uma doença, especialmente sua epidemiologia e o potencial de disseminação desta sobre populações de animais e humanas (zoonoses) são fatores de elevada importância e preocupação das autoridades veterinárias nacionais, quando forem mensurar as ameaças a países importadores, regiões ou rebanhos (Garner et al., 1995). Ou seja, deve-se levar em consideração a morbidade e a mortalidade da doença, se a doença é endêmica ou não para a região que irá receber o sêmen ou embriões. Não obstante, a introdução de novas cepas merece atenção especial, pois podem ser mais virulentas que as nativas, além do que muitos agentes terem o potencial de se multiplicar e mudar muito e rapidamente, e subseqüentemente, se adaptar a novos ambientes, como é o caso dos vírus RNA e de certas bactérias.

Este alarme crescente está relacionado não somente com a infecção exclusiva da fêmea inseminada/inovulada ou do rebanho e sim da problemática da introdução de patógenos exóticos no País importador. Esse risco potencial gera grande preocupação sobre o intercâmbio nacional e internacional deste material genético, demandando pesquisas que visem a comprovação de patógenos no sêmen e em embrião e conseqüentemente de pesquisas que aprimorem os métodos de diagnóstico com maior sensibilidade e especificidade, além de obrigar os países a adotarem rigorosos programas sanitários visando terem reprodutores e

VI Seminário Nordestino de Pecuária – PECNORDESTE 2002
III Semana da Caprino-Ovinocultura Brasileira
VI Feira de Produtos e de Serviços Agropecuários

matrizes sadias para que possam exportar materiais genéticos e que os países importadores adotem medidas rigorosas de controle nas importações.

O desenvolvimento de legislações visando o controle de enfermidades, nem sempre acompanham os avanços científicos e tecnológicos. Questionamentos sobre o potencial para transmissão de patógenos através da transferência de embrião (TE) iniciaram-se quando se tornou evidente que a comercialização de embriões poderia se expandir mundialmente. Desta forma, as implicações epidemiológicas desta tecnologia foram definidas, e medidas de prevenção começaram a ser implantadas (Stringfellow; Seidel, 1999).

No Brasil, importações de caprinos de alta linhagem procedentes de países com alta prevalência para a lentivirose caprina têm ocorrido no decorrer de vários anos e em 1986, Moojen e colaboradores, comprovam a presença do vírus da artrite encefalite caprina (CAEV) em um rebanho que possuía caprinos importados. Outros relatos semelhantes comprovaram que a introdução e disseminação do CAEV no rebanho nacional ocorreram pelas importações de caprinos de raças leiteiras, procedentes de distintos países, sem adequada supervisão, acarretando em graves problemas sanitários (Assis; Gouveia, 1994).

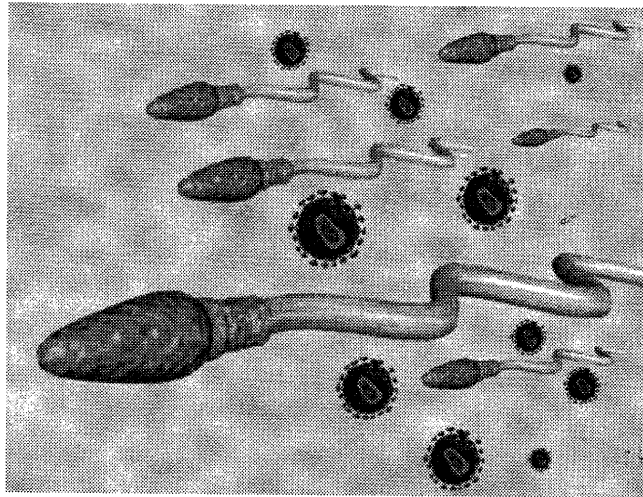


Figura 3 - Presença do vírus da CAE no plasma seminal de caprinos

Levantamentos epidemiológicos, utilizando diversas técnicas sorológicas demonstraram alta prevalência ou a ocorrência da infecção nos caprinos pelo CAEV, com distribuição cosmopolita, em diferentes países. A maior prevalência do CAEV ocorre em países com exploração tecnificada, 65% de animais soropositivos (Adams et al., 1984; Gonzáles et al., 1987), da maioria dos quais já foram notificadas importações pelo Brasil de caprinos e sêmen (Tabela 5 e 6) (BOLETIM DE DEFESA SANITÁRIA, 1980 – 1994).

VI Seminário Nordestino de Pecuária – PECNORDESTE 2002
III Semana da Caprino-Ovinocultura Brasileira
VI Feira de Produtos e de Serviços Agropecuários

Tabela 5 - Ocorrência do CAEV em países dos quais foram importados caprinos para a reprodução e/ou sêmen.

País	Ano	Autor	Soropositivos (%)
Canadá	1984	Adams et al.	77,0
Espanha	1987	Gonzales et al.	82,5
França	1984	Adams et al.	77,0
Inglaterra	1985	Dawson & Wilesmith	10,3
Noruega	1984	Adams et al.	74,0
Suíça	1984	Adams et al.	65,0
	1990	Krieg & Peterans	42,0

Tabela 6 - Importação de caprinos e sêmen, de acordo com o Ministério da Agricultura nos anos de 1980 a 1994.

Ano	País de origem	Nº cabeças	Sêmen (doses)
1980	Reino Unido	27	-
	Suíça	57	-
1981	Alemanha	49	-
	Reino Unido	91	-
	Suíça	7	-
1982	Reino Unido	78	-
1983	Alemanha	51	-
1984	França	100	-
	França	105	-
	Reino Unido	3	-
1985	Alemanha	28	-
	Canadá	4	-
	França	414	-
	Holanda	39	-
	Suíça	81	-
1986	França	426	-
	Suíça	37	-
1987	Canadá	196	-
	França	81	-
	Países baixos	45	-
	Suíça	23	-
	Reino unido	14	-
1988	França	195	-
	Suíça	23	-
1989	Reino Unido	16	-
		15	-
1991	Alemanha	19	-
	Reino Unido	3	-
	Suíça	2	-
1992	França	-	90
1993	França	-	918
1994	Alemanha	19	-
	Espanha	60	-

Fonte: BOLETIM DE DEFESA SANITÁRIA, 1980 – 1994.

(-) significa que não houve importação de animais ou sêmen no período especificado

O risco de contaminação de caprinos das raças nativas é evidente quando considerada a existência de programas de melhoramento genético de raças nativas com raças leiteiras exóticas, com a possibilidade de haver dentre estes caprinos, animais falsos-negativos, ou mesmo animais não testados. O mesmo pode ocorrer com relação a outras doenças para a espécie ovina. Pinheiro et al. (1999) realizaram testes sorológicos em rebanhos onde foram implantados programas de melhoramento em raças nativas do Brasil e/ou SRD, e verificaram

VI Seminário Nordestino de Pecuária – PECNORDESTE 2002
III Semana da Caprino-Ovinocultura Brasileira
VI Feira de Produtos e de Serviços Agropecuários

que a infecção foi significativamente maior nos machos, puros ou mestiços, indicando que esta categoria pode ser a fonte de infecção do rebanho.

A manifestação da doença em reprodutores e matrizes de alto valor genético tem acarretado grandes problemas para os caprinocultores, pois a manutenção destes animais infectados no rebanho representa sérios problemas sanitários, porém o sacrifício é, muitas vezes, inviável, levando em consideração o grande prejuízo econômico e genético. Desta forma, há grande demanda para o aprimoramento dos programas de controle desta enfermidade necessitando-se estabelecer as formas de transmissão deste patógeno e o aprimoramento dos métodos de diagnóstico.

Outras enfermidades importantes já foram detectadas no Nordeste do Brasil como descritas na Tabela 7, evidenciando a presença destes patógenos na região Nordeste e o conseqüente risco de disseminação destas enfermidades, tanto caprinos como ovinos, principalmente considerando o aumento atual na demanda e comércio destes animais, a qual está ocorrendo sem nenhuma fiscalização sanitária adequada.

Tabela 7 - Sorologia de 76 caprinos criados no Nordeste do Brasil, quanto a agente virais e bacterianos:

Agente Etiológico	Ensaio sorológico	Resultado		
		Positivo	Fraco positivo	Negativo
Chlamydia psittaci	ELISA	5	0	71
<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>	SHI	44	0	32
<i>Coxiella burnetti</i>	ELISA	0	0	76
Herpesvírus bovino-1	SVN	1	6	69
Herpesvírus caprino	SVN	26	0	50
Parainfluenza-3-vírus	HI	1	6	69
Lentivírus caprino	AGID	0	5	71
Vírus da diarreia bovina	AFA	2	3	71
Vírus da língua azul	AGID	1	1	74

Fonte: Brown et al., (1989)

SVN – Soroneutralização de vírus; AGID – Imunodifusão em gel de agarose; IFA – Imunofluorescência direta; HI – Inibição da hemaglutinação; SHI – Inibição da hemólise sinérgica

Na inseminação artificial (IA) o potencial de disseminação de enfermidades ou defeitos genéticos é relevante pois o número de fêmeas que podem receber sêmen contaminado é expressivamente maior, caso não sejam rigorosamente seguidas as normas técnicas e sanitárias para o processamento do sêmen.

O sêmen pode infectar-se por microrganismos procedentes dos testículos, epidídimo, glândulas anexas, na uretra ou no prepúcio, ou os patógenos podem ganhar acesso ao sistema reprodutor, pelo sangue e líquidos tissulares extravasados para o sistema reprodutor, nas bacteremias ou viremias, ou no caso de qualquer inflamação ou infecção nestes órgãos. Além disso, o sêmen pode contaminar-se no meio externo, por agentes presentes no meio ambiente, na pele do reprodutor, nos materiais utilizados na coleta e manipulação do sêmen caso não sejam adequadamente esterilizados, e no caso da congelação do sêmen em *pellets*, a contaminação pode ocorrer no nitrogênio líquido (Hare, 1985; Thibier; Guerin, 2000b).

Em pequenos ruminantes vários patógenos foram detectados no sêmen, com transmissão demonstrada ou potencial (Tabela 8) e dentre estes, deve-se dar atenção especial às doenças cujos sinais clínicos são raramente evidentes como a Língua Azul (LA) e a CAE (Philpott, 1993).

VI Seminário Nordestino de Pecuária – PECNORDESTE 2002
III Semana da Caprino-Ovinocultura Brasileira
VI Feira de Produtos e de Serviços Agropecuários

Tabela 8 - Patógenos/enfermidades com risco de transmissão pelo sêmen em pequenos ruminantes.

Patógeno/enfermidades	Presença demonstrada	Transmissão demonstrada	Transmissão provável
CAE	X		X
<i>Chlamydia sp</i>	X		X
Border disease virus	X		X
<i>B. ovis e B. melitensis</i>	X		X
Campylobacteriose bovina	X	X	
Vírus da febre aftosa	X	X	
Febre Q	X		X
Leptospirose	X	X	
Língua azul	X	X	
<i>Mycoplasma mycoides</i> ,	X		X
<i>Mycoplasma agalactie</i>			
Peste dos pequenos ruminantes	X		X
Pox vírus	X		X
<i>Rinderpest</i>	X		X
Salmonelose (<i>S. abortus ovis</i>)	X		X

Adaptado de Hare, 1985.

Até recentemente, a detecção do CAEV em amostras de sêmen não havia sido descrita, provavelmente em função da menor sensibilidade das técnicas disponíveis até então, na detecção de pequenas quantidades de partículas virais. Porém a recente detecção do CAEV no sêmen de bodes, experimental e naturalmente infectados (Travassos et al. 1998, 1999; Andrioli et al., 1999; Andrioli, 2001), demonstra o risco de transmissão desta enfermidade por esta via, sendo recomendado que os reprodutores infectados sejam retirados da reprodução o que representa grande perda deste potencial genético (Russo, 1983; Embrapa, 1994, 1996).

Adams et al. (1983) reportaram que cabras não soroconverteram após exposição ao sêmen ou a machos infectados. No entanto, ligeiro aumento nas taxas de soroconversão tem sido reportado em cabras cruzadas com bodes soropositivos comparadas com fêmeas cobertas com bodes soronegativos (Rowe et al., 1992).

Lesões ou inflamações / infecções no órgão reprodutor podem desencadear o maior células inflamatórias no sêmen (células alvo dos lentivírus) aumentando o risco da transmissão dos lentivírus em ovinos e caprinos (Concha Bermejillo et al., 1996; Andrioli, 2001). além disso outros fatores parecem influenciar a transmissão dos lentivírus pelo sêmen, tais como o estágio da doença, o estado imunológico ou nutricional e a associação com outras enfermidades. Foi também observado que a presença do lentivírus no sêmen parece ter um caráter intermitente, não sendo constatado em todos os ejaculados do mesmo animal (Concha-Bermejillo et al., 1996; Andrioli, 2001),

O CAEV foi detectado, também, por isolamento viral, sendo observado a formação de sincícios na monocamada de membrana sinovial de caprinos – MSC (Andrioli, 2001), sendo que este resultado evidencia a viabilidade do CAEV nas amostras de sêmen lavado e criopreservado o que confirma que a congelamento do sêmen possibilita a sobrevivência do vírus assim como de outros microrganismos.

Porém, embora haja risco na transmissão de enfermidades via sêmen o uso de animais em monta natural, é também de grande risco pois, no caso de caprinos contaminados com o vírus da CAE, o comportamento normal do bode durante a monta representa grande risco de transmissão do vírus pois, frente à fêmea em estro, os bodes bufam e urinam com frequência aumentando o risco de transmissão.

VI Seminário Nordestino de Pecuária – PECNORDESTE 2002
III Semana da Caprino-Ovinocultura Brasileira
VI Feira de Produtos e de Serviços Agropecuários

No caso da TE a Sociedade Internacional de Embriões (IETS), através de seu Comitê de Importação/Exportação, trabalhou por vários anos no auxílio da formulação de protocolos baseados em estudos científicos, a fim de evitar a transmissão de doenças pela TE. Esses protocolos são apresentados por completo nos apêndices da Organização Internacional de Epizootias (OIE). Mas, a comprovação-se de fato não há a possibilidade de transmissão de patógenos pelo embrião, assim como pelo sêmen, requer a constatação de que o agente não se encontra neste meio ou que ele possa ser removido por técnicas que não prejudiquem o germoplasma. Desta forma, o aprimoramento de métodos diagnósticos mais sensíveis são requisitados para a detecção de patógenos no sêmen e ovócito/embrião disponibilizados pelas novas biotecnologias reprodutivas.

Enquanto não se comprova a possível veiculação das principais enfermidades pelo sêmen e embrião, normas oficiais para regulamentar a produção e o comércio de material genético livre de patógenos se fazem necessárias (Afshar; Eaglesome, 1990). Desta maneira a OIE definiu suas diretrizes (Hare, 1985). Nos Estados Unidos da América essas normas foram padronizadas em 1989, sob controle da Associação Nacional de Reprodução Animal (NAAB) (Philpott, 1993) e, recentemente a União Européia (EU) através da diretiva 93/60/EEC estabeleceu suas normas de controle. Países do MERCOSUL estão ainda, estudando normas para o comércio de sêmen, sendo essas exigências baseadas nas pesquisas da presença e transmissão de patógenos no sêmen contaminado.

Os padrões atuais de certificação internacional de embriões são baseados, substancialmente, nas recomendações do Código Internacional de Saúde Animal (*Internacional Animal Health Code*), da OIE e da Organização Mundial de Saúde Animal. Esses padrões visam conhecer tanto as propriedades inatas do embrião, como a eficácia de metodologias padronizadas de processamento de embriões e de métodos de eliminação de patógenos específicos, (Stringfellow ; Seidel, 1999).

Para que ocorra a transmissão de um patógeno através da TE é necessário que este esteja presente dentro do embrião (infecção embrionária verdadeira), em associação ou mesmo aderido à ZP, ou que esteja presente nos fluidos no qual os embriões são recolhidos, manipulados, criopreservados ou transferidos (Singh, 1987; Wrathall, 1995).

Outro fator importante na transmissão de agentes por embrião é a patogenia da doença, especialmente quanto à predileção do patógeno ao trato genital. Entre as principais doenças que afetam os órgãos reprodutores de pequenos ruminantes estão a brucelose, campilobacteriose, leptospirose, clamidiose, micoplasmoses. Agentes carreados pelo sangue podem prontamente ganhar acesso ao trato genital, aumentando o risco no caso de qualquer hemorragia uterina o que ocorre durante a colheita de embriões. No caso de outros agentes de doenças que tem predileção por pele ou vísceras, a probabilidade de contaminação do embrião é remota, todavia tais agentes ocasionalmente produzem infecções generalizadas, e mesmo as localizadas podem causar contaminação dos meios e soluções e do equipamento.

A zona pelúcida - ZP de bovinos e ovinos tem sido considerada uma barreira aos patógenos, sendo que sua integridade é crítica na determinação do estado de sanidade dos embriões. Baseado neste fato, a IETS, recomenda a lavagem dos embriões após a colheita, objetivando a retirada dos possíveis patógenos aderidos à ZP (Stringfellow; Seidel, 1999). As soluções de lavagem podem ter sua eficiência aumentada pela adição ao meio de antibióticos e de tripsina, porém esta só é eficiente para remoção de vírus que possuem envelopes, como é o caso dos lentivírus, porém outros agentes, que aderem firmemente à ZP podem não ser removidos pela lavagem.

Pesquisas realizadas sobre a possibilidade de veiculação de patógenos pela TE e pelas demais biotecnologias de embriões são escassas, principalmente em pequenos ruminantes, e tem amostragem de poucos animais para serem suficientemente seguras. Porém das pesquisas

VI Seminário Nordestino de Pecuária – PECNORDESTE 2002
III Semana da Caprino-Ovinocultura Brasileira
VI Feira de Produtos e de Serviços Agropecuários

realizadas, várias demonstram resultados positivos com o uso da TE, como método rápido e seguro de obtenção de crias sadias de animais infectados, podendo ser uma solução para a obtenção máxima de material genético de matrizes infectadas de alta produção (Tabela 9), deste que sejam obedecidas as normas sanitárias da IETS.

Tabela 9 - Transmissão de enfermidades através da transferência de embriões de doadoras infectadas para receptoras sadias.

<i>Enfermidades</i>	Nº lavagens Dos embriões	Transmissão Receptoras	Transmissão Crias	Referência
Embriões caprinos				
CAEV	03	Negativo	Negativo	Wolfe et al., 1987
CAEV	10	Negativo	Negativo	Andrioli, 2001
Língua Azul	10	Negativo	Negativo	Chemineau et al., 1986
Embriões ovinos				
Scrapie	00	Negativo	Positivo	Foster et al., 1992
<i>Scrapie</i>	03	nr	Negativo	Foote et al., 1993
Língua Azul	4	Positivo	Negativo	Gilbert et al., 1987
Língua Azul	nr	Negativo	Negativo	Hare et al., 1988
Maedi Visna	nr	Negativo	Negativo	Dawson, 1988
Adenomatose pulmonar ovina	nr	Negativo	Negativo	Parker et al., 1988

nr – dado não relatado na referência citada

Certos vírus podem aderir-se tão firmemente à ZP após a exposição *in vitro* que mesmo a lavagem pode falhar em removê-los, como o que ocorre no caso do herpesvírus BHV-1 e o vírus da estomatite vesicular, e também bactérias como *Brucella ovis* e *Brucella abortus* (Tabela 10). E há importantes diferenças nas propriedades da ZP entre as espécies, que podem determinar diferenças quanto à aderência de patógenos a esta. Desta forma, dados de embriões de uma espécie não podem ser extrapolados para de outra espécie (Wrathall, 1995).

Tabela 10 - Infectividade de embriões ovinos após exposição *in vitro* ao patógeno e posterior lavagem.

<i>Patógeno</i>	N.º embriões expostos (n)	Embriões portando patógeno (%)	Referência
Embriões ovinos com zona pelúcida intacta			
Vírus da doença de Border	49	Negativo	Evermann et al., 1981
Vírus da BVD	49	0	Evermann et al., 1981
<i>Brucella abortus</i>	53	4	Riddel et al., 1989
<i>Brucella ovis</i>	-	Positiva	Riddel et al., 1990
<i>Brucella ovis</i>	20*	95	Wolfe et al., 1988
<i>Brucella ovis</i>	49**	94	Wolfe et al., 1988
<i>Campylobacter fetus</i>	164	0	Guerin et al., 1988
Embriões ovinos sem zona pelúcida			
Vírus da doença de Border	49	Negativo	Evermann et al., 1981
Vírus da BVD	23	Negativo	Evermann et al., 1981

* Embriões não expostos a antibiótico ** Embriões expostos a antibiótico

No entanto, o uso de tripsina em meios de lavagem dos embriões tem demonstrado ser eficiente na remoção de vírus envelopados que não são removidos pela lavagem sem a enzima (Stringfellow & Seidel, 1999), como no caso de Andrioli (2001) que não detectou por

VI Seminário Nordestino de Pecuária – PECNORDESTE 2002
III Semana da Caprino-Ovinocultura Brasileira
VI Feira de Produtos e de Serviços Agropecuários

isolamento viral como também o seu DNA pró-viral por PCR *Nested* nas amostras de embrião lavado, embrião não lavado e na solução do último banho o vírus da CAE.

O meio de lavagem uterina colhido de doadoras infectadas pode conter patógenos, embora, Wolfe et al. (1987) não isolaram o CAEV de 12 lavados uterinos de cabras submetidas a TE, Andrioli (2001) observaram que das 10 amostras de fluido uterino coletadas de cabras infectadas com CAE 37,5% foram positivas ao isolamento viral e 70% pela técnica de PCR *Nested*.

A transmissão vertical do CAEV foi também apontada por Ali (1987), East et al., (1993) e por Andrioli (2001), pois a presença do CAEV no meio uterino foi comprovada. Estes estudos demonstram o perigo da transmissão materno fetal de patógenos presentes no meio uterino.

A infecção de embriões *in vitro*, ou seja, no processo da biotecnologia de fecundação *in vitro* (FIV) foi também hipotetizado, pois Lamara et al. (2000) observaram que células da granulosa de caprinos são susceptíveis a infecção e replicação do CAEV em cultura, e como os ovócitos, geralmente, obtidos de ovários de cabras de abatedouros e a ZP de embriões produzidos *in vitro* diferem das produzidas *in vivo*, é importante verificar se a presença do Lentivírus pode influenciar a FIV e o desenvolvimento de embriões *in vitro* e se os tecidos derivados destas fontes podem contribuir para a disseminação da CAE. Além disso, a ZP de embriões produzidos *in vitro* difere das produzidas *in vivo*, e somado ao fato do CAEV poder infectar e replicar bem em células da granulosa - *in vitro* (Lamara et al., 2000), é importante verificar se a presença do Lentivírus pode influenciar o desenvolvimento dos embriões *in vitro* e, principalmente, contribuir para infecção dos embriões.

As novas biotecnologias reprodutivas em estudo que requerem a ruptura da ZP como a transferência nuclear, animais transgênicos e outras, possuem grande risco de transmissão de patógenos, porém nenhum estudo nesta linha tem sido desenvolvido (Thibier, 2001).

Além do problema sanitário propriamente dito o uso de animais ou germoplasma contaminados pode reduzir as respostas reprodutivas a estas técnicas, acarretando perda do investimento, como foi observado por Guerin et al. (1992), que verificaram redução significativa dos resultados de FIV, quando se utilizou sêmen de touros portadores de diarreia viral bovina (BVD). Portanto o custo-benefício do uso de animais doentes em programas reprodutivos deve ser criteriosamente analisado (Andrioli, 2001).

Segundo Andrioli (2001) as taxas de prenhez e de natalidade obtidas, tanto de embriões de cabras contaminadas com CAE, transferidos a fresco como congelados estão abaixo das descritas para a espécie caprina, e semelhantes às descritas por Wolfe et al. (1987) que obtiveram taxas de prenhez (12,5%) e de natalidade (6,25%), para cabras infectadas. Porém, faz-se necessário um estudo concomitante, com cabras sadias e infectadas com o CAEV, utilizando os mesmos tratamentos hormonais e de colheita de embriões, bem como com os mesmo fatores climáticos e de nutrição, para determinar se a infecção pelo CAEV influencia negativamente nas taxas reprodutivas num programa de TE.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso de diferentes biotecnologias reprodutivas e seus diferentes protocolos devem ser analisados e serem compatíveis com as condições da propriedade, os níveis tecnológicos e econômicos alcançados por estas, o tipo e a finalidade fim de exploração, permitindo assim a escolha da técnica que garanta ao produtor um custo benefício rentável.

Os avanços das biotecnologias reprodutivas vem contribuindo para aumento do potencial da Caprino-Ovinocultura, principalmente a implantação de estação reprodutiva, a IA, a TE e as técnicas de criopreservação de germoplasma e pesquisas visando novas

VI Seminário Nordestino de Pecuária – PECNORDESTE 2002
III Semana da Caprino-Ovinocultura Brasileira
VI Feira de Produtos e de Serviços Agropecuários

biotecnologias reprodutivas vem sendo estudadas com perspectivas promissoras para as futuras demandas do agronegócio de pequenos ruminantes.

O estudo sobre a possibilidade de veiculação de patógenos pela monta natural, inseminação artificial (IA) e transferência de embrião (TE), assim como para as demais biotecnologias que estão em desenvolvimento para pequenos ruminantes tem grande importância e requer mais pesquisas, pois influi diretamente no comércio e importação de germoplasma e portanto na potencial econômico deste empreendimento.

As rápidas mudanças que estão ocorrendo no mundo globalizado que requerem mudanças e adaptações de todo o contingente técnico envolvido na cadeia produtiva de pequenos ruminantes. Atualmente, para que qualquer agronegócio tenha sustentabilidade necessita-se de qualidade, eficiência, maior produtividade a um menor custo, e, indispensavelmente um controle rígido da sanidade, pois atualmente barreiras sanitárias que estão sendo impostas pelos Países importadores estão cada vez mais rígidas, superando, em muito, as barreiras econômicas.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- ADAMS, D. S., KLEVJER-ANDERSON, P., CARLSON, J.L. et al. Transmission and control of caprine arthritis-encephalitis virus. *Am. J. Vet. Res.*, v. 44, n. 9, p.1670-1675, 1983.
- ADAMS, D.S., OLIVER, R.E., AMEGHINO, E. et al. Global survey of serological evidence of caprine arthritis-encephalitis virus infection. *Vet. Rec.*, v. 115, p. 493-495, 1984.
- AFSHAR, A., EAGLESOME, M.D. Viruses associated with bovine semen. *Vet. Bull.*, v.60, p.93-109, 1990.
- ALI, O.A. Caprine arthritis-encephalitis related changes in the uterus of goat. *Vet. Rec.*, v.121, n.6, p.131-132, 1987.
- ANDRADE, J.S.; ANDRIOLI-PINHEIRO, A.; YORINORI, E.H. et al. Semi-transcervical: uma opção para a colheita de embriões em caprinos In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES, 15, 2000. Anais. Sociedade Brasileira de Transferência de Embriões, 2000. p.206.
- ANDRIOLI, A. *Métodos de colheita e de inovação de embriões caprinos (Capra hircus, Linnaeus, 1758) e os efeitos de repetidas colheitas na vida reprodutiva de doadoras*. São Paulo: Universidade de São Paulo, 1993. 100p. Dissertação (Mestrado).
- ANDRIOLI, A.; SIMPLÍCIO, A.A.; SOARES, et al. Efficiency and effect of consecutive embryo recoveries on reproductive system of goats donors. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v.36, n.3, p.1-16, 1999.
- ANDRIOLI, A; BISCEGLI, C.I.; SOARES, et al. Doppler equipment for pregnancy detection in goat. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.21, n2, p.148-149,1997.
- ANDRIOLI, A. *Vírus da artrite encefalite caprina: PCR e isolamento em amostras de sêmen, fluido uterino e embriões*. Belo Horizonte, MG: UFMG - Escola de Veterinária, 2001. 68p. Tese (Doutorado).
- AZEVEDO, H.C. *Fontes de variação da viabilidade do sêmen caprino congelado*. Recife: UFRPE, 1996. 100p. Dissertação (Mestrado).
- AMONG E. A.; GELAYE, S. Biotechnological advances in goat reproduction, *J.Anim. Sci.* v.75, p.578-585, 1997.
- ASSIS, A.P.M.V., GOUVEIA, A.M.G. Evidências sorológicas de lentivírus (Maedi Visna/Artrite Encefalite Caprina) em rebanhos nos estados de MG., RJ., BA., CE. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MED. VETERINÁRIA, 23, Recife- PE, 1994. Anais... Recife: 1994, p. 104.

VI Seminário Nordestino de Pecuária – PECNORDESTE 2002

III Semana da Caprino-Ovinocultura Brasileira

VI Feira de Produtos e de Serviços Agropecuários

- BARIL, B.; CASAMITJANA, P.; PERRIN, J. et al. Embryo production, freezing and transfer in Angora, Alpine and Saanen goats. *Zuchthyg.*, v.24, p.101-115, 1989.
- BARIL, G.; REMY, B.; LEBOEUF, B. et al. Comparison of porcine FSH, caprine FSH and ovine FSH to induce repeated superovulation in goats. In: SCIENTIFIC MEETING OF EUROPEAN EMBRYO TRANSFER ASSOCIATION, 8, 1992. Lyon, France. *Proceedings...* Lyon-France: AETE, v.1, p.126, 1992
- BATT, P.A.; KILLEEN, I.D.; CAMERON, A.W. Use of single or multiple injections of FSH in embryo collection programmes in goats. *Reproduction Fertility and Development*, v.5, n.1, p.49-56, 1993.
- BOLETIM DE DEFESA SANITÁRIA. Brasília: Ministério da Agricultura e do Abastecimento – Secretaria Nacional de Defesa Sanitária Animal – SDSA, v.14 – 27, 1980 – 1994.
- DATTENA, M.; VESPIGNANI, S.; BRANCA, A. et al. Superovulation response and quality of embryos recovered from anoestrus ewes after single injection of FSHp dissolved in polyvinylpyrrolidone. *Theriogenology*, v.42, n.2, p.235-239, 1994.
- DAWSON, M. Lentivirus disease of domesticated animals. *J. Comp. Pathol.*, v.99, p.401-419, 1988.
- DAWSON, M., WILESMITH J. W. Serological survey of lentivirus (Maedi-visna \ caprine arthritis-encephalitis) infection in British goat herds. *Vet. Rec.*, v. 117, n. 4, p. 86-9, 1985.
- BROWN, C.C; OLANDER, H.J.; CASTRO, A.E. et al. Prevalência of antibodies in goats in North-eastern Brazil to selected viral and bacterial agents. *Trop. Anim. Hlth. Prod.*, v.21, p.167-169, 1989.
- CHEMINEAU, P., PROCUREUR, R., COGNIÉ, Y. et al. Production, freezing and transfer of embryos from a bluetongue infected goat herd without bluetongue transmission. *Theriogenology*, v.26, n.3, p. 279-290, 1986.
- CONCHA-BERMEJILLO, A, MAGNUS-CORRAL, S., BRODIE, S.J. et al. Veneral shedding of ovine lentivirus in infected rams. *Am. J. Vet. Res.*, v.57, p.684-688, 1996.
- EAST, N.E., ROWE, J.D., DAHLBERG, J.E. et al. Modes of transmission of caprine arthritis-encephalitis virus infection. *Small Rumin. Res.*, v.10, p.251-262, 1993.
- EMBRAPA Relatório de Consultoria - Programa de Controle da Artrite Encefalite Caprina a Vírus (PCAEV) (subprojeto Nº 06.0.94.102-01). Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos. 1994, 125p.
- EMBRAPA Relatório de Consultoria - Programa de Controle da Artrite Encefalite Caprina a Vírus (PCAEV-II) (subprojeto Nº 06.0.94.102-01). Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos. 1996, 110p.
- EVERMANN, J.F.; FARIS, M A, NIEMI, S.M. et al. Pesti-virus persistence and pathogenesis: Comparative diagnostic aspects of border disease virus of sheep and bovine viral diarrhoea virus. Proc 24th ANN MEET AM. ASSOC VET. LAB DIAG. 1981, p.407-426.
- FOOTE, W.C., CLARK, W., MACIULIS, A. et al. Prevention of scrapie transmission in sheep using embryo transfer. *Am. J. Vet. Res.*, v.54, p.1863-1868, 1993.
- FOSTER, J.D., MCKELVEY, W.A.C., MYLNE, M.J.A. et al. Studies on maternal transmission of scrapie in sheep by embryo transfer. *Vet. Rec.*, v. 130, p.341-343, 1992.
- FRANÇA, M.P. *Inseminação artificial com sêmen congelado de caprino no sertão do estado de Pernambuco*. Niterói, Universidade federal Fluminense, 1981. 59p. Dissertação (Mestrado).
- GARNER, M.G., LACK, M.B. Modelling the potential impact of exotic diseases on regional Australia. *Aust. Vet. J.*, v.72, p.81-87, 1995.

VI Seminário Nordestino de Pecuária – PECNORDESTE 2002
III Semana da Caprino-Ovinocultura Brasileira
VI Feira de Produtos e de Serviços Agropecuários

- GILBERT, R.O., COUBROUGH, R.J., WEISS, K.E. The transmission of bluetongue virus by embryo transfer in sheep. *Theriogenology*, v.27, n.3, p.527-540, 1987.
- GONZÁLES, L., GELABERT, J.L., MARCO, J.C. et al. Caprine arthritis-encephalitis in the Basque country, Spain. *Vet. Res.*, v.120, n.5, p.102-109, 1987.
- GONZALES STAGANARO, C. Inseminação artificial em cabras com sêmen congelado. *Zootechnia*, v.24, n.3, p.151-63, 1975.
- GUÉRIN, B., BUILLY, J.P., HUMBLLOT, P. et al. Effects de la contamination experimentale *in vitro* des embryons de souris et de brebis par *Campylobacter fetus*. *Bull Acad. Vet. De France*, v.61, p.63-78, 1988.
- GUÉRIN, B., CHAFFAUX, S., ALLIETTA, M. et al. IVF and IV culture os bovine embryos using semen from a bull persistently infected with BVD. *Theriogenology*, v.31, p.217, 1992.
- HANADA, A. In vitro fertilization in goat. *Jpn. J. Anim. Reprod.*, 1985, v.31, p.21-26.
- HARE, W.C.D. Enfermedades transmissibles por el semen y las tecnicas de transferencia de embriones. France: *Office International des Epizooties*, 1985. 83p. (serie técnica nº4).
- KRIEG, A., PETERHANS, E. Caprine arthritis-encephalitis in Switzerland: epidemiologic and clinical studies. *Schweiz Arch Tierheilkd*, v.132, p.345-352, 1990.
- LAMARA, A., FIENE, F., CHEBLOUNE, T. et al. In vitro susceptibility of goat granulosa cells to caprine arthritis encephalitis virus: preliminary results. *Theriogenology*, v.53, n.1, p. 320, 2000.
- MANDONNET N, AUMONT G, FLEURY J, et al. Assessment of genetic variability of resistance to gastrointestinal nematode parasites in Creole goats in the humid tropics. *J. Anim. Sci.*, v.79, n.7, p.1706 - 12, 2001.
- MARIANTE, A S.; EGITO, A A. Animal genetic resources in Brazil: result of five centuries of natural selection. *Theriogenology*, v.57, n.1, p.223-235., 2002.
- MOOR, R.M.; TROUSON, A.O. Hormonal and follicular factors affecting maturation of sheep oocyte in vitro and their subsequent development al capacity. *Journal of Reproduction and Fertility*, 1977, v.49, n.1, p.101-109.
- MOOJEN, V., SOARES, H.C., RAVAZZOLO, A.P. et al. Evidência de infecção pelo lentivirus (maedi-visna/artrite encefalite caprina) em caprinos no Rio Grande do Sul, Brasil. *Arq. Fac. Med. Vet. UFRGS*, v. 14, p.77-78, 1986.
- PARKER, B.N.J.; WRATHALL, AE.; SAUNDERS, R.W. et al. Embryo transfer (ET) in control of pulmorary adenomatosis of sheep (SPA) – Progress report. Proc 11th INTERNATIONAL ANIMAL REPRODUCTION AI, Dublin, v.2, 1988, p.182-183.
- PHILPOTT, M. The dangers of disease transmission by artificial insemination and embryo transfer. *Br. Vet. J.*, v.149, p.339-369, 1993.
- PINHEIRO, R.R., GOUVEIA, A.M.G., ANDRIOLI, A. Prevalência da Artrite Encefalite Caprina em reprodutores caprinos nas principais regiões leiteiras do Estado do Ceará. *Rev. Bras. Repr. Animal*. v. 23, n.3, p. 421-423, 1999.
- PTAK, G.; DATTENA, M.; LOI, P. et al. Ovum pick-up in sheep: Efficiency of in vitro embryo production, vitrification and birth of offspring. *Theriogenology*, v. 52, n.6, p.1105-1114, 1999.
- RIDDELL, M.G., STRINGFELLOW, D.A., WOLFE, D.F. et al. *In vitro* exposure of ovine ova to *Brucella abortus*. *Theriogenology*, v.31, p.895-901, 1989.
- RIDDELL, M.G., STRINGFELLOW, D.A., WOLFE, D.F. et al. Seroconversion of recipient ewes after transfer of embryo exposed to *Brucella ovis in vitro*. *Theriogenology*, v.34, p.965-973, 1990.

VI Seminário Nordestino de Pecuária – PECNORDESTE 2002
III Semana da Caprino-Ovinocultura Brasileira
VI Feira de Produtos e de Serviços Agropecuários

- ROMERO, J.R.; VILLAMIL, L.C.; PINTO, J.A. Econimical impacto of animal diseases on production systems in South America: cases studies. *Rev. Sci. Tech.*, v.18, n.2, p.498-511, 1999.
- ROWE, J. D., EAST, N. E., THURMOND, M. C. et al. Cohort study of natural transmission and two methods for control of caprine arthritis-encephalitis virus infection in goats on a California dairy. *Am. J. Vet. Res.*, v. 53, n. 12, p. 2386-2395, 1992.
- RUSSO, P. Isolation of a virus in an outbreak of polyarthritis in goat. Preliminary serological survey. *Bulletin de'la Academie Veterinaire de France*, v.56, n.1 p.31-38, 1983.
- SALLES, H.O.; ANDRIOLI, A.; SOARES, A.T. et al. Utilização da semi-laparoscopia na transferência de embriões em caprinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES, 24, 1996, *Anais...* Águas de Lindóia, São Paulo: SBTE, p., 1996.
- SALLES, H.O.; SOARES, A.T.; AZEVEDO, H.C. et al.. Diagnóstico precoce de prenhez em caprinos através da ultra-sonografia transretal. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 12, 1997, Caxambu, *Anais...*, Caxambu, 1997, p.19-21.
- SALLES, H.O.; ANDRIOLI, A.; SOARES, A.T. et al. Viabilidade das técnicas de congelamento e descongelamento de embriões caprinos mediante o uso de etilenoglicol e sacarose. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES, 25, 1997, *Anais...* Foz do Iguaçu, Paraná: SBTE, p. 298, 1997
- SALLES, H.O.S. Bipartição de embriões caprinos, uma técnica de fácil execução. <http://www.ruralnet.com.br/atigos> 2001b
- SALLES, H.O.S. Circuito fechado para a colheita de embriões em caprinos. <http://www.ruralnet.com.br/atigos>, 2001a.
- STRINGFELLOW, D.A., SEIDEL, S.M. *Manual da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões*. 3. ed. Illinois: International Embryo Transfer Society, 1999. Ed. SBTE, 180p.
- SIMPLÍCIO, A A; MACHADO, R. Fertilidade em cabras inseminadas com sêmen congelado durante o estro natural ou sincronizado com MGA, hCG e cloprostenol. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 9. 1991, Belo Horizonte, *Anais*. Belo Horizonte: CBRA. 1991a, p.363.
- SIMPLÍCIO, A A; MACHADO, R. Fertilidade em cabras inseminadas com sêmen congelado durante o estro natural ou sincronizado com MGA, eCG e cloprostenol. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 9. 1991, Belo Horizonte, *Anais*. Belo Horizonte: CBRA. 1991b, p.362.
- SIMPLÍCIO, A A; MACHADO, R. Fertilidade em cabras leiteiras submetidas a sincronização do estro com cloprostenol e inseminadas em horários pré-estabelecido. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 9. 1991, Belo Horizonte, *Anais*. Belo Horizonte: CBRA. 1991c, p.351.
- SIMPLÍCIO, A.A.; SANTOS, D.O.; SOUZA, T.E.F. DE; et al. Inovação a fresco e após criopreservação de embriões caprinos produzidos in vivo em fêmeas pré-púberes e púberes. *Arquivo da Faculdade de Veterinária, UFRGS*, São Paulo, v.27, n.1, p.318, 1999.
- SINGH, E.L. The disease control potential of embryos. *Theriogenology*, v.27, p.9-20, 1987.
- SOARES, A.T.; SIMPLÍCIO, A.A.; ANDRIOLI, A. et al. Eficiência do flunixin meglumine no controle da regressão lútea prematura em cabras superovuladas. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.50, n.1, p.35-39, 1998.
- SOARES, A.T. *Diferentes doses de flunixin meglumine na prevenção da regressão prematura de corpos lúteos em cabras superovuladas*. Pernambuco: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 1996. 64 p. Dissertação (Mestrado).

VI Seminário Nordestino de Pecuária – PECNORDESTE 2002
III Semana da Caprino-Ovinocultura Brasileira
VI Feira de Produtos e de Serviços Agropecuários

- STRINGFELLOW, D.A., SEIDEL, S.M. *Manual da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões*. 3. ed. Illinois: International Embryo Transfer Society, 1999. Ed. SBTE, 180p.
- TRALDI, A.S.; VISINTIN, J.A.; MIZUTA, K. et al.. Utilização de antiprostaglandínico na prevenção da regressão prematura de corpos lúteos em caprinos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 11, 1995, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1995. p.244.
- TRALDI, A.S.; VISINTIN, J.A.; MIZUTA, K. et al. Resposta superovulatória de caprinos à gonadotrofina da menopausa humana (hMG). *Arquivo da Faculdade de Veterinária, UFRGS*, Porto Alegre, v.24, p.218, 1996. (Supl.).
- TRALDI, A.S.; LEBOEUF, B.; BARIL, G. et al. Vitrificação: um bom método alternativo para a criopreservação de embriões caprinos e ovinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES, 14, 1999, Campos do Jordão, SP. *Anais...* Campos do Jordão: Sociedade Brasileira de Transferência de Embriões, 1999. p. 301.
- THIBIER, M.; NIBART, M. Clinical aspects of embryo transfer in some domestic farm animals. *Animal Reproduction Science*, v.28, p.139-148, 1992.
- THIBIER, M.; GUERIN, B. Hygienic aspects of storage and use of semen for artificial insemination. *Animal Reproduction Science*, v. 62, p. 233-251, 2000.
- THIBIER, M. Identified and unidentified challenges for reproductive biotechnologies regarding infectious diseases in animal and public health, *Theriogenology*, v.56, n.9, p.1465-1481, 2001.
- TRAVASSOS, C., BENOÎT, C., VALAS, S. et al. Caprine arthritis-encephalitis virus in semen of naturally infected bucks. *Small Ruminant Research*, v.32, p.101-106, 1999.
- TRAVASSOS, C., BENOÎT, C., VALAS, S. et al.. Détection du virus de l'arthrite encéphalite caprine dans le sperme de boucs infectés expérimentalement. *Vet. Res.*, v.29, p.579-585, 1998.
- WALTON, T.E. The impact of diseases on the importation of animal productions. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, v.916, p.36-40, 2000.
- WHATHALL, A.E. Embryo transfer and disease transmission in livestock a review of recent research. *Theriogenology*, v.43, p. 81-88, 1995.
- WOLFE, D.F., NUSBAUM, E.E., LAUERMAN, L.H. et al. Embryo transfer from goats seropositive for caprine arthritis-encephalitis virus. *Theriogenology*, v. 28, n. 3, p. 307-316, 1987.
- WOLFE, D.F., STRINGFELLOW, D.A., RIDDELL, M.G. et al. Adherence of *Brucella ovis* to preimplantation ovine ova. *Theriogenology*, v.30, p.387-393, 1988.