

TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EM CAPRINOS

"Artigo de Revisão"

Aurino Alves Simplício¹ Diônes Oliveira Santos²
Hévila Oliveira Salles³ Alice Andrioli Pinheiro⁴

RESUMO - A transferência de embriões (TE) tem como objetivo maximizar o potencial reprodutivo da fêmea através da exploração do seu potencial biológico, visando extrapolar suas possibilidades naturais e contribuir para a disseminação de animais geneticamente superiores. A viabilidade da TE na espécie caprina foi primeiro demonstrada em 1934 nos Estados Unidos e no Brasil em 1986. O nascimento de crias viáveis oriundas de embriões criopreservados em nitrogênio foi registrado pela primeira vez em 1976 na Austrália e no Brasil em 1997. Com a TE tem-se a possibilidade de obter de quatro a dez embriões, morfologicamente viáveis, por fêmea doadora/coleita, podendo o programa ser repetido de quatro a seis vezes em um ano. A TE oferece amplas possibilidades para se incrementar o ganho genético, principalmente, por reduzir o intervalo entre gerações, além de atender objetivos de ordem sanitária e comercial. A sobrevivência embrionária é influenciada por alguns fatores, dentre eles: a condição corporal e de saúde de doadoras e receptoras; a resposta super ovulatória das doadoras; a taxa de ovulação (TO) das receptoras; o número de embriões inovulados por receptora e a sincronia entre o estado fisiológico das receptoras e a idade dos embriões. No Brasil, ainda não existe um protocolo para criopreservação de embriões caprinos que seja prático e de fácil uso, comprovado em nosso meio, sendo notória a importação de animais vivos que, em sua maioria, é responsável pela introdução de doenças exóticas ao rebanho nacional. A TE associada à criopreservação disponibiliza aos produtores, técnicos e à sociedade, em geral, a possibilidade de vencer as barreiras do tempo e do espaço, transformando-a numa técnica de grande importância zootécnica e econômica. Ainda, com o uso da criopreservação de embriões, é possível importar e exportar germoplasma dispensando o transporte de animais e períodos de quarentena, significando redução nos custos do processo de aquisição de animais; transferir embriões para fêmeas em estro natural, sem a obrigatoriedade da sincronização artificial do estro e da ovulação da receptora; preservar embriões colhidos excedentes ao número de receptoras sincrônicas; adequar a época dos partos, independentemente da data da colheita dos embriões; formar bancos de germoplasma objetivando a conservação de espécie e/ou raça em perigo de extinção; acelerar o melhoramento genético, em especial, pela multiplicação rápida de

¹ MEd. Vet., MSc, PhD, Pesquisador da Embrapa Caprinos, Caixa Postal D-10, 62.011-970, Sobral, CE, Fono (088) 614-3077, Fax (088) 614-3132, E-mail: asimplic@cnpc.embrapa.br. autor para correspondência.

² Méd. Vet., MSc, Pesquisador da Embrapa Caprinos.

³ Méd. Vet., Pesquisadora da Embrapa Caprinos.

⁴ MEd. Vet., MSc, Pesquisadora da Embrapa Caprinos.

fêmeas geneticamente superiores, mesmo quando se encontrarem a longa distância; favorecer a implementação de teste de progênie em fêmeas; comercializar, transportar e difundir material genético entre produtores, regiões e países. A TE é importante como prática de manejo reprodutivo mas, principalmente, uma ferramenta para o melhoramento genético dos rebanhos caprinos. Conclui-se, que o FSH é a gonadotrofina que oferece melhores respostas quanto à TO e o número de embriões morfológicamente viáveis, o etilenoglicol é o melhor crioprotetor para o embrião caprino e a sobrevivência embrionária *in vivo* correlaciona-se positivamente com o estágio de desenvolvimento dos embriões.

Termos para indexação: pequenos ruminantes, reprodução.

EMBRYO TRANSFER IN GOATS

ABSTRACT - The objective of this work is to show and discuss the situation of embryo transfer (ET) in goats around the world and its use to explore goat production specially in tropical regions, aiming to overcome the natural possibilities and contribute to the dissemination of genetically superior animals. The viability of the ET on the caprine species was first demonstrated in 1934 in the United States and in Brazil in 1986. The birth of viable animals originated from cryopreserved embryos in nitrogen, was registered for the first time in 1976 in Australia and in Brazil in 1997. With the ET, there is the possibility of obtaining from four to ten morphologically viable embryos, from the female donor/collect, and still the program can be repeated from four to six times in a year. The ET offers wide possibilities of incrementing genetic gain, mainly, for reducing the interval between generations, as well as attending to sanitary and commercial standards. The embryonary survival is influenced by some factors, among them: body condition and the health of the donors and receivers; the superovulatory answer from the donors; the ovulation rate (OR) of the receivers; the number of unovulated embryos for each receiver and the synchrony between the physiologic state of the receivers and the age of the embryos. In Brazil, there still isn't a protocol for the cryopreservation of caprine embryos that can be practical and of easy use, proved in our environment, being the importation of live animals well-known, that in its majority, is responsible for the introduction of exotic diseases to the national flock. The ET associated to the cryopreservation makes it available to the producers, technicians and the society, in general, the possibility of defeating the barriers of time and space, transforming it into a technique of great zotechnical and economic importance. Still, with the use of cryopreservation of embryos, it is possible to: import and export plasmagerm exempting the animal transport and periods of quarantine, meaning a reduction on the cost of the process of acquisition of animals; transfer embryos to females in natural estrus, without the need of artificial synchronization of estrus and of the receiver ovulation; preserve collected embryos exceeding to the number of synchronic receivers; adequate the

time of births, independently from the date of the collection of the embryos; accelerate the genetic improvement, specially, by the rapid multiplication of genetically superior females, even when they meet at a long distance; benefit the implementation of progeny in females; commercialize, transport and spread genetic material among producers, regions and countries. The ET is important as a practice of reproductive handling but, mainly, a tool for the genetic improvement of the caprine flock. It is allowed to conclude that the FSH is the gonadotrophin that offers the best answers as to the OR and the number of embryos morphologically viable, the ethilene glycol is the best cryoprotector for the caprine embryo and the embrionary survival *in vivo* correlates positively embryo development state.

Index terms: small ruminants, reproduction.

INTRODUÇÃO

A caprinocultura brasileira, apesar de predominante na Região Nordeste, uma vez que esta detém, aproximadamente, 89,0% do efetivo nacional, tem se expandido em todo o País. Inicialmente, apresentando grande ênfase na exploração caprina leiteira existindo, na atualidade, uma crescente demanda, também, pela exploração caprina especializada na produção de carne e peles. Contudo, a existência de pólos agro-industriais na Região e fora dela, para os diferentes produtos: carne, leite, pele e seus derivados, têm demandado matéria-prima de boa qualidade além de constância na oferta. Portanto, a caprinocultura é uma atividade potencialmente geradora de riquezas e, por conseguinte, uma alternativa para a fixação do homem na atividade agro-empresarial, além de oferecer bem estar-social e contribuir para o PIB brasileiro.

Diante do exposto e vislumbrando contribuir para o desenvolvimento da atividade caprina com enfoque no agronegócio e para a ocupação do papel a ela reservado nos mercados interno e externo, é fundamental investir na modernização da caprinocultura brasileira, iniciando pela organização da Unidade Produtiva. Neste contexto, o descarte orientado e a escrituração zootécnica muito têm a oferecer, des-

de que atrelados à práticas de manejo da alimentação-nutrição, da saúde e da reprodução, visando maximizar o potencial reprodutivo e, por conseguinte, o produtivo da espécie. Tecnologias como a criopreservação do sêmen e a inseminação artificial já são realidades e associadas ou não, ampliam substancialmente a capacidade reprodutiva dos machos. Por outro lado, dentre os avanços biotecnológicos ora disponíveis a transferência de embriões (TE), técnica de manejo da reprodução ainda em fase de consolidação no País, tem como principal objetivo a maximização reprodutiva da fêmea, explorando assim seu potencial biológico ao extrapolar suas possibilidades naturais, e contribuir para a disseminação de animais geneticamente superiores.

POTENCIALIDADES DA TE

Em geral, nas condições tradicionais de uma exploração caprina, o número de descendentes viáveis produzidos por fêmea é, em média, de dois a três por ano, não excedendo 12 a 15 durante sua vida reprodutiva. Com o uso da TE tem-se a possibilidade de obter de quatro a dez embriões, morfologicamente viáveis, por fêmea doadora/colheita, podendo o programa ser repetido de quatro a seis vezes em um ano. Tervit et al. (1985) descrevem que obtiveram 17 crias Saanen por cabra/ano, signi-

ficando uma taxa de reprodução de, aproximadamente, oito vezes maior do que a normal para a raça. Por outro lado, Song & Iritani (1986) e Salles et al. (1998), demonstraram a viabilidade da superovulação e do uso de fêmeas caprinas pré-púberes e púberes como doadoras de embriões. Desta forma, existem amplas condições para se incrementar o ganho genético, principalmente, por reduzir o intervalo entre gerações, além de atender objetivos de ordem sanitária e comercial. A importação de embriões de centrais idôneas possibilita a aquisição de material genético para o refrescamento de sangue, com o mínimo de risco para introdução e/ou disseminação de doenças. No Brasil, são poucas as equipes treinadas e capacitadas para executarem a técnica atendendo às exigências de ordem nutricional, sanitária e reprodutiva, necessárias para a implementação de um amplo programa de TE. Além disso, ainda não existe um protocolo para criopreservação de embriões que seja prático e de fácil uso, comprovado em nosso meio, que possibilite maximizar o potencial reprodutivo das fêmeas geneticamente superiores. Desta forma, é notória a importação de animais vivos, sendo estes, em sua maioria, responsáveis pela introdução de doenças até então exóticas ao rebanho nacional. Por outro lado, associar a TE à criopreservação disponibiliza aos produtores, técnicos e à sociedade, em geral, a possibilidade de vencer as barreiras do tempo e do espaço, transformando-a, dessa forma, numa técnica de grande importância zootécnica e econômica. Ainda, com o uso da criopreservação de embriões é possível: importar e exportar germoplasma dispensando o transporte de animais e períodos de quarentena, o que significa redução nos custos do processo de aquisição de animais; transferir embriões para fêmeas em estro natural, sem a necessidade de sincronização artificial do estro e da ovulação da receptora; preservar embriões colhidos excedentes ao número de receptoras sincrônicas; adequar a época dos partos, independentemente

da data da colheita dos embriões; formar bancos de germoplasma objetivando a conservação de espécie e/ou raça em perigo de extinção; acelerar o melhoramento genético, em especial, pela multiplicação rápida de fêmeas geneticamente superiores, mesmo quando se encontrarem a longa distância; favorecer a implementação de teste de progênie em fêmeas; comercializar, transportar e difundir material genético entre produtores, regiões e países (Oliveira & Gonzalez, 1992; Baril, 1995; Ishwar & Memon, 1996).

VIABILIDADE DA TE

A viabilidade da transferência de embriões na espécie caprina foi primeiramente demonstrada por Warwick et al. (1934) e Warwick & Berry (1949), nos Estados Unidos. Também, grande contribuição para a compreensão dos diferentes estádios de desenvolvimento do embrião caprino foi dada por Amoroso et al. (1942). No Brasil, as primeiras experiências em caprinos, também com embriões a fresco, foram feitas por Chow et al. (1986), ao transferirem cinco embriões da raça Branca Alemã para duas receptoras mestiças, redundando no abortamento de dois fetos, de sexos diferentes, aos 130 dias de prenhez da receptora que havia recebido dois embriões. Entretanto, o nascimento de crias caprinas viáveis oriundas de transferências a fresco somente foi descrito no Brasil em 1989, no Estado do Paraná (Multiplicação, 1989) e em Pernambuco (Wischral et al., 1989) (Tabela 1). Por outro lado, o nascimento de crias caprinas viáveis oriundas de embriões criopreservados em nitrogênio líquido foi registrado pela primeira vez por Bilton & Moore (1976), na Austrália e, posteriormente, por Pendleton et al. (1986), nos Estados Unidos, por Wang et al. (1988) na China e por Salles et al. (1997), no Brasil.

FATORES QUE INFLUENCIAM NA TE

Os resultados da TE podem ser influenciados por vários fatores, dentre eles: a raça,

Tabela 1 - Histórico da transferência de embriões em caprinos na América do Norte e no Brasil

País	Embrião	Resultado	Fonte
U.S.A.(4) ^A	Fresco	PH/NP	Warwick et al. 1934
U.S.A.(1) ^B	Fresco	PH/P	Warwick et al. 1934
U.S.A. (1) ^C	Fresco	NPH	Warwick et al. 1934
Brasil	Fresco	PH/NP	Chow et al. 1986
Brasil	Fresco	PH/P	Wischral et al. 1989
Brasil	Fresco	PH/P	Multiplicação ... 1989
Brasil	Criopreservado	PH/P	Salles et al. 1997

() Nº entro parêntese significa receptora; PH = Prenhez; NP = Não parto; P = Parto; NPH = Não prenhez A = Embrião ovino; B = Embrião caprino e da mesma cabra; C = Embrião caprino.

o manejo, especialmente inerente ao nutricional, sanitário e reprodutivo; a variação individual de doadoras e receptoras à sincronização do estro com a ovulação; a resposta ovulatória da doadora frente ao desafio de gonadotrofinas; a técnica de colheita e de inovulação; o estágio de desenvolvimento embrionário; a composição da solução crioprotetora; a remoção do crioprotetor e reidratação do embrião; a regressão pré-matura de corpos lúteos; o número de embriões transferidos; o número de corpos lúteos da receptora; a sobrevivência embrionária, entre outros (Moore, 1982; Armstrong & Evans, 1983; Kraemer, 1989; Brebion et al., 1992; Ashworth, 1995; Gootwine et al., 1997).

SAÚDE E NUTRIÇÃO

Em geral, a importância da condição sanitária de doadoras, receptoras e do próprio embrião sobre os resultados de um programa de TE têm sido amplamente discutida por Eaglesome et al. (1980). Chemineau et al. (1986), demonstraram a segurança da TE como uma alternativa de controle da introdução de doença em região indene ao usar embriões criopreservados após submetidos a dez lavagens sucessivas, mantendo o fator de diluição de um para 100, oriundos de rebanho caprino infectado com o vírus da Língua Azul. Em adição, a transmissão do vírus da Artrite Encefalite Caprina através da inovu-

lação de embriões oriundos de fêmeas soropositivas para receptoras soronegativas não foi confirmada (Wolfe et al., 1987; Andrioli-Pinheiro et al., 1996a; Freitas et al., 1999).

Em regiões tropicais a influência da nutrição sobre o desempenho reprodutivo dos caprinos tem sido descrita (Gonzalez-Stagnaro & Ramon, 1991; Oliveira 1992; Rosnina et al., 1992), ao demonstrarem a existência de correlação positiva entre o desempenho reprodutivo e a condição de nutrição das matrizes (Tabela 2). Em adição, Mani et al. (1992), ressaltam que a subnutrição em cabras submetidas a sincronização do estro retarda o aparecimento do estro clínico, reduz a taxa de ovulação e influencia na sobrevivência embrionária (Tabela 3). Ainda, Mani et al. (1994), descrevem que a subnutrição das receptoras pode afetar negativamente a porcentagem de prenhez e a sobrevivência dos embriões (Tabela 4). No Nordeste do Brasil, ao inovular embriões importados, Araújo (1994) descreve que o regime de manejo intensivo influenciou, positivamente, a sobrevivência embrionária em relação ao semi-intensivo. Entretanto, usando embriões criopreservados no País, Simplício et al. (1998), não registraram influência dos regimes de manejo, semi-intensivo, sobre a sobrevivência dos embriões pós inovulação, desde que as receptoras estejam em bom estado de nutrição e clinicamente com saúde.

Tabela 2 – Influência da suplementação energético-protéica por 45 dias anteriores ao desafio gonadotrófico sobre a porcentagem de cabras que responderam à superovulação* e a taxa de ovulação

Tratamento	Gonadotrofina	Animais			
		Em estro N	Superovularam		Taxa de ovulação (\bar{x} + dp)
			N	%	
T ₁	FSH	28	21	75,0	10,0 ± 5,6 ^a
	HMG	28	27	96,4	16,0 ± 7,2 ^b
	Total	56	48 ^a	85,7	-
T ₂	FSH	11	2	18,2	4,0 ± 2,2 ^c
	HMG	12	3	25,0	4,6 ± 0,8 ^c
	Total	23	5 ^b	21,7	-

* Animais com três ou mais corpos lúteos. T₁ - Animais suplementados; T₂ - Animais não suplementados. Valores seguidos de letras diferentes, na mesma coluna, dentro o ontro tratamentos apresentam diferença significativa (P<0,01).

Fonte: Oliveira, 1992.

Tabela 3 – Influência da nutrição sobre a porcentagem de prenhez e nas taxas de partos e perda embrionária potenciais em cabras submetidas à sincronização e abati-das entre 57 e 65 dias após as cobrições

Variável	Nutrição		
	Mantença ¹	Restrita ²	P
Cabras cobertas	13	18	-
Taxa de ovulação	1,92	1,33	< 0,01
Cabras que não ovularam	0	4	-
Prenhez (%) / fêmeas cobertas	92,5	50,0	< 0,05
Prenhez (%) / fêmeas que ovularam	92,5	64,3	-
Total de fetos / % de ovulações	76,0	66,7	-
Prolificidade potencial / cabras cobertas	1,46 ± 0,18	0,87 ± 0,24	< 0,10
Prolificidade potencial / cabras prenhes	1,58 ± 0,15	1,78 ± 0,22	> 0,10
Perda embrionária (%)	24,0	33,3	> 0,10

¹ A suplementação teve início no dia do estro e provia 100% dos requerimentos durante a fase experimental.

² A suplementação teve início no dia do estro e provia 25% dos requerimentos de energia metabólica e proteína bruta digestível para mantença até os animais perderem 25% do peso inicial.

Fonte: Mani et al. , 1992.

Tabela 4 – Influência da nutrição das receptoras sobre a porcentagem de prenhez e a sobrevivência embrionária

Variável	Tratamento		
	T ₁	T ₂	T ₃
N ^o de receptoras	6	10	9
Embriões transferidos	12	20	19
Porcentagem de cabras prenhes	33,3	20,0	66,7
Sobrevivência embrionária (%)	25,0 ^{AB}	5,0 ^B	57,9 ^A
Natimortos (%)	8,3	15,0	0,0
Total de fetos (%)	33,3 ^{AB}	20,0 ^B	,9 ^A

P<0,05 para valores seguidos de letras diferentes na mesma linha.

T₁: A suplementação teve início 35 dias antes da ovulação e provia 25% dos requerimentos da mãe, a partir daí passou a prover 100% dos requerimentos por 60 dias.

T₂: A suplementação teve início 35 dias antes da ovulação e provia 100% dos requerimentos de manutenção, a partir daí passou a prover 25% dos requerimentos por 60 dias.

T₃: A suplementação atendia 100% dos requerimentos de manutenção, antes e após a ovulação.

Fonte: Mani et al., 1994.

ESTÁDIO DE DESENVOLVIMENTO DO EMBRIÃO

A influência do estágio de desenvolvimento do embrião caprino na sua viabilidade à conservação a 5°C ou após a criopreservação e ovulação foi demonstrada por Agrawal & Bhattacharyya (1983), Li et al. (1990), Pegoraro-Rumpf et al. (1990) e Nowshari & Holtz (1995). Nowshari & Holtz (1995). Além de demonstrarem que as mórulas são mais sensíveis do que os blastocistos à criopreservação, descrevem que os blastocistos colhidos e transferidos a fresco são mais viáveis quanto a porcentagem de prenhez e de sobrevivência embrionária (83,0 e 67,0) do que embriões colhidos em estágio de mórula e cultivados por 24 horas até blastocisto (54,0 e 41,0), respectivamente, (Tabela 5). Por outro lado, Tsunoda et al. (1984; 1985), descrevem a viabilidade de se produzir gêmeos idênticos ou monozigóticos a partir de hemi-embriões e que estes, quando oriundos de blastocistos eclodidos são mais viáveis do que quando se utiliza blastocistos e mórulas (Tabela 6). Nowshari & Holtz (1993), corroboram os resultados anteriores ao demonstrarem que o estágio de de-

envolvimento do embrião anterior à bipartição, também, influencia na qualidade dele, pois 75,0% dos hemi-embriões de boa qualidade eram oriundos de blastocistos, enquanto somente 45,0% de bons embriões foram obtidos de mórulas. Em adição, os hemi-embriões oriundos de blastocistos (83,0%) suportaram melhor a criopreservação do que aqueles originários de mórulas (52,0%). No Brasil, Bem & Pegoraro-Rumpf (1992), obtiveram 100,0% de sucesso *in vitro* após a congelação/descongelação e bipartição de seis embriões em estágio de blastocisto eclodido e cultivo por duas a três horas com visualização do botão embrionário trofoblasto e formação de blastocite.

CONSERVAÇÃO E CRIOPRESERVAÇÃO

Bilton & Moore (1976), possivelmente, foram os primeiros a descreverem a possibilidade de embriões caprinos colhidos entre o quinto e sétimo dia após as cobrições serem mantidos viáveis a 5°C por um a dois dias, bem como, a importância do cultivo *in vitro*, por 48 horas, visando avaliar a viabilidade desses. Entre os crioprotetores os mais usados são o dimetilsulfo-

Tabela 5 – Influência do cultivo do embrião do estágio de mórula para o de blastocisto, antes da congelação, sobre a sobrevivência após a transferência

Variável	Blastocisto	
	Cultivado ¹	Fresco ²
Receptoras	11	12
Blastocisto transferidos por receptora	2	2
Prenhez (n; %)*	6; 54,5	10; 83,3
Partos (n; %)	6; 54,5	9; 75,0
Sobrevivência embrionária (n; %)	9; 40,9 ^b	16; 66,6 ^a

* Baseada na determinação da progesterona no plasma sanguíneo 21 dias após o início do estro.

¹ Cultivo por 24 horas antes da criopreservação; ² Colhido em estágio de blastocisto o criopreservado.

P<0,08 para valores seguidos de letras diferentes

Fonte: Nowshari & Holtz, 1995.

Tabela 6 – Influência do estágio de desenvolvimento do embrião sobre a bipartição, a porcentagem de partos e a sobrevivência embrionária

Variável	Estádio de Desenvolvimento		
	Mórula	Blastocisto	Blastocisto eclodido
Nº de embriões	22	21	18
Embriões bipartidos (n - %)	16 - 72,7	15 - 71,4	16 - 88,8
Embriões cultivados ^a	16	-	-
Embriões que se desenvolveram (n - %)	6 - 37,5	-	-
Embriões transferidos ^b	5	9	11
Nº de receptoras	5	9	11
Partos (n - %)	0 - 0,0	3 - 33,3	6 - 54,5
Sobrevivência embrionária (n - %)	0 - 0,0	3 - 16,7	10 - 45,5

^a Cultivo por 16 a 20 horas; ^b Pares de embriões.

Fonte: Tsunoda et al., 1985.

xido (DMSO), o propanediol, o glicerol e o etilenoglicol. Dentre os protocolos em uso para a criopreservação de embriões caprinos, ainda, predomina o processo lento ou método clássico (Pendleton et al., 1986; Baril et al., 1989), no qual de uma a duas horas são necessárias para que os embriões, na solução crioprotetora, desçam gradativamente da temperatura ambiente a -35°C, quando são submergidos no nitrogênio líquido a -196°C. O emprego desse método leva, invariavelmente, a remoção do crioprotetor e a reidratação dos embriões após a descongelação em placa,

mesmo quando se associa a sacarose a 1 M na solução de remoção do etilenoglicol, e a reidratação dos embriões em três passagens sucessivas como descrito por Salles et al. (1997). Contudo, grande avanço na criopreservação foi alcançado com a demonstração feita por Le Gall et al. (1993) e Fiéni et al. (1995) de que o etilenoglicol é superior aos demais crioprotetores para conservação da viabilidade do embrião caprino após a congelação/descongelação. Em adição, a remoção do crioprotetor e a reidratação do embrião após a descongelação têm sido facilitadas pela

adição de sacarose (variando de 1 M a 0,25 M) a solução de remoção do crioprotetor e, também, pela redução no número de passagem do embrião, de três para uma vez, na solução de remoção do crioprotetor e reidratação (Pendleton et al., 1986; Rao et al., 1988; Le Gall et al., 1993; Fiéni et al., 1995 (Tabela 7).

Tabela 7 – Influência do crioprotetor sobre a sobrevivência de embriões criopreservados e inovulados

Variável	Crioprotetor					
	Etilenoglicol			Glicerol		
	Mórula	Blastocisto	Total	Mórula	Blastocisto	Total
Embriões criopreservados	84	63	147	57	56	113
Embriões transferidos	53	47	100	38	45	83
Crias nascidas:	29	22	51	12	13	25
% de embriões criopreservados	34,5	34,9	34,7	21,1	23,2	22,1
% de embriões transferidos	54,7 ^A	46,8 ^a	51,0	31,6 ^B	28,9 ^b	30,1

P<0,05 e P<0,10 para valores seguidos de letras diferentes para mórula e blastocisto, respectivamente, entre crioprotetores.

Fonte: Lo Gal et al., 1993.

Entretanto, estabelecer um protocolo de congelação/descongelação, prático, rápido e eficaz é, sem dúvida, o principal desafio e estimulará a utilização da criopreservação e transferência de embriões em caprinos por um maior número de equipes. Neste contexto, a vitrificação, que consiste na exposição do embrião ao crioprotetor em alta concentração e a imersão direta dele no nitrogênio líquido surge como uma alternativa favorecendo o uso da TE em nível de propriedade privada. A vitrificação além de oferecer vantagens quanto a praticidade em sua execução, utiliza um menor volume de soluções e requer um menor tempo de operação, o que representa uma significativa redução nos custos operacionais e, também, causa menores danos aos embriões criopreservados por reduzir a formação de cristais de gelo intra e extracelulares (Ali & Shelton, 1993). Evidencia-se que alguns pesquisadores antes de imergir o embrião no N₂ o expõe aos vapores de nitrogênio, por dois a três minutos.

O primeiro relato de êxito após inovulação e conseqüente nascimento de crias viáveis oriundas de embriões caprinos pro-

duzidos *in vivo* e vitrificados, possivelmente, foi descrito por Yuswiati & Holtz (1990). No Brasil, acredita-se que foram Ribeiro et al. (1989) os primeiros a usarem a vitrificação em embriões caprinos e os mesmos autores descrevem que após a descongelação e a reidratação em placa, dos 26 embriões, cinco (19,2%) romperam a zona pelúcida, 12 (46,2%) eram bons, sete (26,9%) regulares e dois (7,7%) degenerados, respectivamente. Em geral, ainda, é assumida a superioridade dos resultados de sobrevivência embrionária obtidos pelo uso do método clássico em relação a vitrificação, principalmente, quando se associa a sacarose às etapas de remoção da solução crioprotetora e a reidratação do embrião em placa (Fiéni et al., 1995; Salles et al. 1997). Embora Traldi et al. (1997) relatem resultados semelhantes entre os dois métodos, quando fizeram a remoção da solução crioprotetora e a reidratação dos embriões em placa de petri e alcançaram porcentagem de prenhez, por ecografia, de 86,0 e 75,0, respectivamente, aos 43 dias após as inovulações por laparoscopia. Em adição, Traldi et al. (1999) descrevem 57,9% de partos e uma média de 0,9 crias

caprinas por receptora, após usarem embriões caprinos vitrificados e transferidos por mini-laparotomia. Ressalta-se que após a descongelação os embriões foram submetidos a cultura por cinco minutos e a seguir feita a reidratação em placa. Por outro lado, Simplício et al. (1999) descrevem resultado positivo de prenhez por ultrassografia aos 45 dias após inovulação, com embriões produzidos *in vivo*, oriundos de animais da raça Anglo-nubiana, púberes, vitrificados, descongelados e reidratados na própria palheta e transferidos diretamente ao útero, por semi-laparoscopia conforme descrita por Salles et al. (1996).

COLHEITA E INOVULAÇÃO

A colheita dos embriões deve ser feita entre o sexto e o oitavo dia do ciclo estral (dia do estro = dia zero) devido a possibilidade de se obter embriões em estágio de mórula e blastocisto e destes poderem ser transferidos a fresco ou criopreservados. Entretanto, quando se destinam exclusivamente à criopreservação as colheitas devem ser feitas, preferencialmente, entre o 6, 5º dia e

o 7º dia devido já a partir do 8º dia ocorrer uma elevada incidência de blastocistos eclodidos, o que é indesejável do ponto de vista sanitário e de intercâmbio de germoplasma (Andrioli-Pinheiro et al. 1996b).

Na atualidade, o método de colheita mais em uso em caprino, ainda, é a laparotomia (Tervit et al., 1983, 1985; Kraemer, 1989; Wischral et al. 1989; Pegoraro-Rumpf et al., 1992; Ishwar & Memon, 1996; Gootwine et al., 1997). Entretanto, devido a problemas provenientes do uso dessa técnica como: o desenvolvimento de aderências entre ovários, trompas e cornos uterinos entre si e com órgãos adjacentes ao sistema genital (Pegoraro-Rumpf et al., 1992; Andrioli-Pinheiro, 1993) e o uso da doadora por, apenas, duas a quatro vezes, 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. Taxas de recuperação de 63,2%; 62,3% e 60,7% para a primeira, segunda e da terceira a sétima colheita, nessa ordem, têm sido descritas ao se fazer colheita de embriões por laparoscopia (Vallet et al., 1987) (Tabela 8).

Tabela 8 – Influência do número de colheita sobre a taxa de recuperação embrionária por laparoscopia

Variável	Colheita		
	1	2	3 a 7
Taxa de recuperação	63,2 ^a	62,3 ^a	60,7 ^a
Taxa de ovulação	14,2	13,8	12,9

P>0,05 para valores seguidos de letras iguais:

Fonte: Vallet et al., 1987.

BonDurant et al. (1984) divulgaram a primeira colheita de embrião pela via transcervical, seguindo-se a inovulação cirúrgica e o subsequente nascimento de duas crias a termo. Uma taxa de recuperação de 89,5% e um número médio de embriões colhidos por fêmea de 3,6 com a colheita transcervical em fêmeas caprinas pluríparas foram descritas por Nagashima

et al. (1987). Goel et al. (1995) descrevem que de 15 cabras submetidas a colheita de embriões pela via cervical, em 14 delas (93,3%) a cérvix foi permeável ao catéter com uma taxa de recuperação da solução de lavagem de 70,0% mas, em apenas, cinco cabras foram colhidos embriões em diferentes estádios de desenvolvimento. No Brasil, trabalhando com cabras Saanen

(Pereira et al. 1991); Canindé, Mestiças e SRD (Oliveira 1992) e Moxotó (Andrioli-Pinheiro 1993), descrevem taxas de recuperação de embriões, pela via transcervical, de 39,6; 30,6 e 57,1, nessa ordem. Ainda, no País, Lima et al. (1996) trabalhando com cabras SRD, descrevem porcentagens de recuperação embrionária da ordem de 57,9 por laparotomia e 48,2 e 46,8 para colheita pela via transcervical, com a fêmea em estação e em decúbito dorsal, respectivamente. As prostaglandinas (E_1 , E_2 e $F_2\mu$) têm sido usadas, com resultados satisfatórios, em associação ou não ao cipionato

de estradiol, algumas horas antes das tentativas de colheitas via cérvix uterina com o objetivo de favorecer sua permeabilidade ao catéter (Van Niekerk et al., 1990; Oliveira, 1992; Pereira et al., 1996).

A inovulação deve ser feita para o corno uterino ipsilateral ao ovário portador de, pelo menos, um corpo lúteo funcional. Baril et al. (1989) descrevem que a porcentagem de partos e a sobrevivência embrionária são superiores quando as inovulações são feitas por laparotomia em relação a laparoscopia, independente dos embriões serem criopreservados ou não (Tabela 9).

Tabela 9 – Influência da técnica de transferência e do estado de conservação do embrião sobre a fertilidade das receptoras

Técnica de transferência	Embriões	Variável			
		N	Receptoras	% de Partos	% de Sob. Embrionária
Laparotomia	Fresco	97	43	74,4 ^A	51,5 ^A
	Criopreservado	26	13	61,5 ^B	26,4 ^a
Laparoscopia	Fresco	244	106	42,5 ^a	25,8 ^B
	Criopreservado	133	59	23,7 ^b	10,2 ^b

P<0,05 para valores seguidos de letras diferentes, dentro e entre os efeitos principais. Sob. = Sobrevivência
Fonte: Baril et al., 1989.

Enquanto, Salles et al. (1996a) citam a semi-laparoscopia como uma técnica alternativa e eficaz para se fazer a inovulação em cabras. Flores-Foxworth et al. (1992) obtiveram 35,7% e 38,9% de prenhez após a inovulação por laparoscopia e via cérvix, respectivamente. Ao fazerem a inovulação pela via transcervical, Agrawal & Bhattacharyya (1982) conseguiram 42,9% de prenhez e uma sobrevivência embrionária de 11,8%. Já Otsuki & Soma (1964) obtiveram 14,3% de partos ao fazerem, também, a inovulação pela via transcervical, enquanto Lin et al. (1979) alcançaram 62,5% de prenhez e uma sobrevivência embrionária de 54,5% ao inovularem 11 mórulas, através da cérvix, para oito receptoras.

SUPEROVULAÇÃO E REGRESSÃO PRECOZE DE CORPO LÚTEO

Em um programa de TE a superovula-

ção é uma etapa de suma importância. Atenção especial deve ser dada à nutrição e a saúde das doadoras; a gonadotrofina usada, em especial quanto a origem, a dose e a via de aplicação; ao custo e a praticidade de uso do protocolo. Dentre as gonadotrofinas, o hormônio folículo estimulante (FSH), de origem caprina, ovina ou suína, em doses decrescentes, por um período de três a quatro dias e a gonadotrofina coriônica equina (eCG) têm sido as mais usadas (Suh et al., 1975; Moore & Eppleston, 1979; Armstrong & Evans, 1983; Kiessling et al., 1986; Nagashima et al., 1987; Nuti et al., 1987; Lima, 1989; Tsunoda & Surgie, 1989; Sarmah et al., 1996; Cognie, 1999). O uso da eCG por ser em dose única é mais prático. Mas, a taxa de ovulação e o número de embriões morfológicamente normais e transferíveis são maiores quando se usa o FSH (Armstrong & Evans, 1983; Tervit et al., 1985;

Tsunoda & Sugie, 1989; Cognie, 1999) (Tabela 10). Entretanto, a resposta superovulatória após sucessivas administrações de FSH de origem suína (FSHp) leva a formação de anticorpos anti-FSHp e em consequência a redução na taxa de ovulação (Remy et al., 1991). Contudo, esta situação não ocorre quando do uso de FSH de origem caprina (FSHc) ou ovina (FSHo) como descrito por Baril et al. (1992) e Gootwine et al. (1997). Em adição, quando extrato de pituitária de origem ovina foi usado para superovular cabras não ocorreu regressão precoce de corpos lúteos e existiu uma relação linear e significativa entre o número de corpos lúteos e o de

embriões recuperados (McNatty et al., 1989) (Tabela 11).

O uso da gonadotrofina coriônica humana (hCG), na dose de 700 UI a 1000 UI, durante as primeiras seis horas após o início do estro sincronizado não influencia na taxa de ovulação (Lima et al., 1997, 1999). Contudo, a aplicação do hormônio liberador das gonadotrofinas (GnRH) em cabras em anestro da lactação induz a ovulação (Knight et al., 1988). Ainda, quando o GnRH foi usado entre 20 e 24 horas após a remoção das esponjas vaginais ou dos implantes subcutâneos, em associação ao protocolo de superovulação com FSH ou eCG, influ-

Tabela 10 – Influência da gonadotrofina sobre a taxa de ovulação e do número de embriões recuperados viáveis

Gonadotrofina	Doadoras	TO ($\bar{x} \pm dp$)	Embriões ($\bar{x} \pm dp$)
FSH	51	16,2 \pm 7,8 ^a	9,4 \pm 5,6 ^c
eCG	31	10,0 \pm 4,5 ^b	5,7 \pm 4,4 ^d

P<0,01 para valores seguidos de letras diferentes, dentro de coluna.

Fonte: Tsunoda & Sugie, 1989.

Tabela 11 – Influência da fonte da gonadotrofina sobre a taxa de ovulação e o número de embriões, total e morfologicamente viáveis

Gonadotrofina	Doadora	TO ($\bar{x} \pm ep$)	Embriões	
			Totais ($\bar{x} \pm dp$)	Viáveis ($\bar{x} \pm dp$)
FSHp (Folltropin)	18	16,3 \pm 1,8	10,2 \pm 1,6	7,9 \pm 1,4 ^a
FSHo (Ovagen)	17	16,2 \pm 2,1	12,6 \pm 1,9	11,1 \pm 1,8 ^a

P>0,05 para valores seguidos de letras iguais.

Fonte: McNatty et al., 1989.

enciou, positivamente, na sincronia das ovulações e na taxa de ovulação (Cameron et al., 1988; Li et al., 1990; Krisher et al., 1994) (Tabela 12).

Tabela 12 – Taxa de ovulação (TO) e de recuperação de embriões em cabras sincronizadas e superovuladas com FSH associado a uma aplicação intramuscular de 50 mg de GnRH 24 horas após a remoção dos implantes

Tratamento	Doadoras	TO ($\bar{x} \pm ep$)	Embriões %
T _I	11	18,5 \pm 3,7 ^a	60,4
T _{II}	10	5,3 \pm 4,1 ^b	81,0

T_I = Norgestomet - 3 mg subcutâneo + FSH + PGF_{2a} + GnRH

T_{II} = Norgestomet -3 mg subcutâneo + FSH + GnRH

P < 0,05 para valores seguidos de letras diferentes na mesma coluna.

Fonte: Krisher et al., 1994.

Evidencia-se que a resposta ao desafio superovulatório é influenciada pela variabilidade individual entre as doadoras e que a regressão precoce dos corpos lúteos (CL's) interfere, negativamente, na taxa de recuperação e na qualidade e viabilidade dos embriões e, por conseguinte, esses dois fatores repercutem diretamente na relação benefício/custo de um programa de TE. A regressão precoce dos CL's pode ser resolvida com o uso de progesterona exógena ou de um inibidor da síntese de prostaglandina, o flunixin meglumine (Gilbert et al., 1990). Este tem sido usado através de aplicações intramusculares na dose variável de 2,2 mg/kg a 1,1 mg/kg de peso vivo, a partir das 72 horas após a suspensão do tratamento progesterônico, a cada 12 horas, durante três a cinco dias consecutivos (Traldi et al., 1995; Andrioli-Pinheiro et al., 1996b; Soares, 1996; Soares et al., 1998). Evidencia-se que a dose de 1,1 mg/kg de peso vivo aplicada por via IM, a cada 24 horas, durante quatro dias consecutivos foi eficaz em controlar a regressão precoce dos CL's (Salles et al., 1996b). Ressalta-se que Simplício et al. (1999) também, usando a dose de 1,1 mg/kg de peso vivo reduziram o número de aplicações para três, com intervalo de 24 horas entre elas, mantendo a eficácia e tornando o protocolo mais econômico

SOBREVIVÊNCIA EMBRIONÁRIA

A sobrevivência embrionária é influenciada, dentre outros fatores, pela resposta superovulatória das doadoras; pela condição corporal e a taxa de ovulação das receptoras; pelo número de embriões inovulados por receptora; pelo estágio de desenvolvimento dos embriões; pelo local da inovulação e pelo sincronismo entre o estado fisiológico da doadora com o da receptora, isto é, com a idade dos embriões. Ressalta-se que a transferência de dois embriões por receptora resulta em maior sobrevivência do que de um ou de três ou mais embriões e que a assincronia entre o estado fisiológico da doadora com o da receptora não deve ser superior a 24 horas (Armstrong et al., 1983; Tervit et al., 1986; Ashworth, 1995) (Tabela 13).

CONSIDERAÇÕES GERAIS

O sucesso da TE está, positivamente, correlacionado com a condição de nutrição e de saúde das doadoras e das receptoras e, também, com a sincronia entre o estágio fisiológico das receptoras e a idade dos embriões e o número de corpos lúteos da receptora;

A transferência de dois embriões por receptora, resulta em maior sobrevivência do que a de um ou de três ou mais embriões;

Existe uma correlação positiva entre o estágio de desenvolvimento e a sobrevivência embrionária *in vivo*;

O FSH é a gonadotrofina que oferece melhores respostas quanto à taxa de ovu-

lação e o número de embriões morfologicamente viáveis;

O etilenoglicol é o melhor crioprotetor para o embrião caprino quando se usa o método clássico de congelação.

Tabela 13 - Influência do número de corpos lúteos da receptora e de embriões transferidos na sobrevivência embrionária.

Variável	N	Embriões Transferidos	Sobrevivência %
Nº de corpos lúteos	1	225	54,7 ^b
	2	499	65,7 ^a
	3 ou mais	44	75,0 ^a
Nº de embriões	1	51	51,0 ^b
	2	58	65,2 ^a
	3	69	47,8 ^b

P<0,01 para valores seguidos de letras diferentes na mesma coluna e dentro do efeito principal.
Fonte: Armstrong et al., 1983.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRAWAL, K.P.; BHATTACHARYA, N.K. Non-surgical transplantation of embryos in goats. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON GOATS PRODUCTION AND DISEASE, 3, 1982, Tucson, Arizona, USA. **Proceedings...** Tucson: University of Arizona. College of Agriculture, 1982. p.340.
- AGRAWAL, K.P.; BHATTACHARYYA, N.K. In vitro preservation of goat embryo at refrigeration temperature (5 °C). **Indian Journal Animal Science**, v.53, n.4, p.441-442, 1983.
- ALI, J.; SHELTON, J. N. Successful vitrification of day-6 sheep embryos. **Journal Reproduction and Fertility**, v.99, n.1, p.65-70, 1993.
- AMOROSO, E.C.; GRIFFITHS, W.F.B.; HAMILTON, W.J. The early development of the goat (*Capra hircus*). **Journal Anatomy**, v.76, p.377-406, 1942.
- ANDRIOLI-PINHEIRO, A. **Métodos de colheita e de inovulação de embriões caprinos (*Capra hircus*, LINNAEUS, 1758) e os efeitos de repetidas colheitas na vida reprodutiva de doadoras.** São Paulo: USP, 1993. 100p. Tese Mestrado.
- ANDRIOLI-PINHEIRO, A.; SALLES, H.O.; MOURA SOBRINHO, P.A.; SOARES, A.T.; MARQUES, M.A.J.; MORAES, J.B. Fatores relevantes para implantação de um programa de transferência de embriões em caprinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES, 11, 1996. **Anais...**Canela: SBTE, p. 193, 1996b.
- ANDRIOLI-PINHEIRO, A.; SALLES, H.O.; PINHEIRO, R.R.; MOURA SOBRINHO, P.A.; MORAES, J.B.; MARQUES, M.A.J.; SOARES, A.T. Controle da artrite encefalite caprina a vírus (CAEV) através da transferência de embriões (TE). In: CONGRESSO PANAMERICANO DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS, 15; 1996, Campo Grande. **Resumos...** Campo Grande: SOMVET, 1996a. p.391.
- ARAÚJO, A.A. de. **Viabilidade técnica da transferência de embriões congelados na espécie caprina em clima tropical.** Fortaleza: UECE, 1994. 52p. Tese Mestrado.
- ARMSTRONG, D.T.; EVANS, G. Factors influencing success of embryo transfer in sheep and goats. **Theriogenology**, v.19, n.1, p.31-42, 1983.
- ARMSTRONG, D.T.; PFITZNER, A.P.;

- WARNES, G.M.; SEAMARK, R.F. Superovulation treatments and embryo transfer in Angora goats. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.67, n.2, p.403-410, 1983.
- ASHWORTH, C.J. Maternal and conceptus factors affecting histotrophic nutrition and survival of embryos. **Livestock Production Science**, v.44, n.2, p.99-105, 1995.
- BARIL, G. Possibilidades atuais da transferência de embriões em caprinos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 11., 1995, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1995. p.110-120.
- BARIL, B.; CASAMITJANA, P.; PERRIN, J.; VALLET, J.C. Embryo production, freezing and transfer in Angora, Alpine and Saanen goats. **Zuchthyg.**, v.24, p.101-115, 1989.
- BEM, A.R.; PEGORARO-RUMPF, L.M. Bipartição de embriões caprinos pós-descongelamento: resultados parciais. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES, 7, 1992. **Anais...** Jaboticabal, São Paulo: SBTE, 1992. p.96.
- BILTON, R.J.; MOORE, N.W. In vitro culture, storage and transfer of goat embryos. **Australian Journal Biology Science**, v.9, p. 125-129, 1976.
- BONDURANT, R.H.; SKIRROW, S.; ANDERSON, G.B. Nonsurgical collection of blastocysts from dairy goats. **Theriogenology**, v.22, n.4, p.423-431, 1984.
- BREBION, P.; BARIL, G.; COGNIÉ, Y.; VALLET, J.C. Transfert d'embryons chez les ovins et les caprins. **Annales de Zootechnie**, v.41, p.331-339, 1992.
- CAMERON, A. W. N.; BATTYE, K. M.; TROUNSON, A.O. Time of ovulation in goats (*Capra hircus*)
- CHEMINEAU, P.; PROCUREUR, R.; COGNIÉ, Y.; LEFÈVRE, P.C.; LOCATELLI, A.; CHUPIN, D. Production, freezing and transfer of embryos from a bluetongue-infected goat herd without bluetongue transmission. **Theriogenology**, v.26, n.3 , p.279-290, 1986.
- CHOW, L.A.; VALLE, M.A.G.; COELHO, S.G. Transferência de embriões em caprinos: relato de um caso. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v.10, n.1, p.9-10, 1986.
- COGNIE, Y. State of the art in sheep-goat embryo transfer. **Theriogenology**, v.51, n.1, p.105-116, 1999.
- EAGLESOME, M.D.; HARE, W.C.D.; SINGH, E.L. Embryo transfer: A discussion on its potential for infectious disease control based on a review of studies on infection of gametes and early embryos by various agents. **Canadian Veterinary Journal**, v.21, n.4, p.106-112, 1980.
- FIÉNI, F.; BECKERS, J.P.; BUGGIN, M.; BRUYAS, J.F.; PERRIN, J.; DAUBIÉ, M.; TAINURIER, D. Evaluation of cryopreservation techniques for goats embryos. **Reproduction Nutrition Development**, v.35, n.4, p.367-373, 1995.
- FLORES-FOXWORTH, G.; MCBRIDE, B.M.; KRAEMER, D.C.; NUTI, L.C. A comparison between laparoscopic and transcervical embryo collection and transfer in goats. **Theriogenology**, v.37, n.1, p.213, 1992.
- FREITAS, V.J. de F.; CAVALCANTE, T.V.; SALLES, H.O.; TEIXEIRA, M. de F. da S. Embryo transfer from seropositive goats for caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV) with birth of seronegative kid. **Ciência Animal**, v.9, n.1, p.5-9, 1999.
- GILBERT, D.E.; COONROD, S. A.; WRITING, C. J.; PASHEN, R. L. Comparison of progesterone intravaginal device with flunixin meglumine for reducing the effects of corpora lutea regression in goat. **Theriogenology**, v.33, n.1, p.230, 1990.
- GOEL, A.K.; TYAGI, S.; AGRAWAL, K.P. Nonsurgical collection of embryos from goats. **Indian Journal of Animal Sciences**, v.65, n.3, p.293-296, 1995.
- GONZALEZ-STAGNARO, C.; RAMON, J.P. "Influencia de la condición corporal y del "efecto macho" sobre el comportamiento y eficiencia reproductiva en ovejas y cabras tropicales". In: JORNADA DE PRODUCCION

- ANIMAL, 4., 1991, Zaragoza, España. Zaragoza: A.I.D.A., 1991.
- GOOTWINE, E.; BARASH, I.; BOR, A.; DEKEL, I.; FRIEDLER, A.; HELLER, M.; ZAHARONI, U.; ZENUE, A.; SHANI, M. Factors affecting success of embryo collection and transfer in a transgenic goat program. **Theriogenology**, v.48, n.3, p.485-499, 1997.
- ISHWAR, A. K.; MEMON, M. A. Embryo transfer in sheep and goats: a review. **Small Ruminant Research**, v.19, n.1, p.35-43, 1996.
- KIESSLING, A.A.; HUGHES, W.H.; BLANKEVOORT, M.R. Superovulation and embryo transfer in the dairy goat. **Journal American Veterinary Medical Association**, v.188, n.8, p.829-832, 1986.
- KNIGHT, C.H.; WILDE, C.J.; MCLEOD, B.J.; HARESIGH, W. Exogenous GnRH induces ovulation in seasonally anoestrous goats (*Capra hircus*). **Journal Reproduction and Fertility**, v.83, n.2, p.679-686, 1988.
- KRAEMER, D.C. Embryo collection and transfer in small ruminants. **Theriogenology**, v.31, n.1, p.141-148, 1989.
- KRISHER, R.L.; GWAZDAUSKAS, F.C.; PAGE, R.L.; RUSSELL, C.G.; CANSECO, R.S.; SPARKS, A.E.T.; VELANDER, W.H.; JOHNSON, J.L.; PEARSON, R.E. Ovulate rate, zygote recovery and follicular populations in FSH-superovulated goats treated with PGF₂ and / or GnRH. **Theriogenology**, v.41, n.2, p.491-498, 1994.
- LE GAL, F.; BARIL, G.; VALLET, J.C.; LEBOEUF, B. In vivo and in vitro survival of goat embryos after freezing with ethylene glycol or glycerol. **Theriogenology**, v.40, n.4, p.771-777, 1993.
- LI, R.; CAMERON, W.N.; BATT, P.A.; TROUNSON, A.O. Maximal survival of frozen goat embryos is attained at the expanded, hatching and hatched blastocyst stages of development. **Reproduction, Fertility and Development**, v.2, n.4, p.345-350, 1990.
- LIMA, P.F. DE. Utilização de gonadotrofina hipofisária e extra-hipofisária na superovulação de caprinos. Recife: UFRPE, 1899. 83p. Tese Mestrado.
- LIMA, P.F. DE.; OLIVEIRA, M.A.L.; GUERRA, M.M.P.; ALVES, J.D.R.; F. NETO, J.E.; RABELO, M.C. Eficiência de diferentes métodos de colheita embrionária em caprinos (resultados preliminares). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.20, n.2, p.63-68, 1996.
- LIMA, P.F. DE.; OLIVEIRA, M.A.L.; GUERRA, M.M.P.; GUIDO, S.I.; SILVA, A.C.J. Administração de hCG em cabras superovuladas com FSH. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.21, n.2, p.139-141, 1997.
- LIMA, P.F. DE.; OLIVEIRA, M.A.L.; GUIDO, S.I.; WISCHRAL, A.; COLETO, Z.F. Superovulação de cabras com hCG e eCG. In: CONGRESSO PERNAMBUCANO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 4., 1999, Recife. **Anais...** Recife: Sociedade Pernambucana de Medicina Veterinária, 1999. p.322-323.
- LIN, A.; LEE, K.; CHANG, S.; LEE, P. Non-surgical embryo transfer in goats. **Memoirs of the College of Agriculture: National Taiwan University**, v.19, p.25-33, 1979.
- MANI, A.U.; MCKELVEY, W.A.C.; WATSON, E.D. The effects of low level of feeding on response to synchronization of estrus, ovulation rate and embryo loss in goats. **Theriogenology**, v.38, n.6, p.1013-1022, 1992.
- MANI, A.U.; WATSON, E.D.; MCKELVEY, W.A.C. The effects of subnutrition before or after embryo transfer on pregnancy rate and embryo survival. **Theriogenology**, v.41, n.8, p.1673-1678, 1994.
- MCNATTY, K.P.; HUDSON, N.L.; BALL, K.; MASON, A.; SIMMONS, M.H. Superovulation and embryo recovery in goats treated with ovagen and follitropin. **New Zealand Veterinary Journal**, v.37, n.1, p.27-29, 1989.
- MOORE, N.W. Egg transfer in the sheep and goat. In: ADAMS, C.E. **Mammalian egg transfer**. Boca Raton, Flórida: CRC Press, 1982. p.119-133.

- MOORE, N.W.; EPPELSTON, J. Embryo transfer in the Angora Goat. **Australian Journal Agriculture Research**, v.30, n.5, p.973-981, 1979.
- MULTIPLICAÇÃO das cabras. **Manchete Rural**, v.3, n.27, p.55-56, 1989.
- NAGASHIMA, H.; MATSUI, K.; SAWASAKI, T.; KANO, Y. Nonsurgical collection of embryos in Shiba goats. **Experimental Animal**, v.36, n.1, p.51-56, 1987.
- NOWSHARI, M.A.; HOLTZ, W. Transfer of split goat embryos without zonae pellucidae either fresh or after freezing. **Journal Animal Science**, v.71, n.12, p.3403-3408, 1993.
- NOWSHARI, M.A.; HOLTZ, W. In vitro culture of goat morulae to blastocysts before freezing. **Theriogenology**, v.44, p.983-988, 1995.
- NUTI, L.C.; MINHAS, B.S.; BAKER, W.C.; CAPEHART, J.S.; MARRACK, P. Superovulation and recovery of zygotes from Nubian and Alpine dairy goats. **Theriogenology**, v.28, n.4, p.482-488, 1987.
- OLIVEIRA, V.S. DE. Efeitos do hormônio folículo estimulante (FSH) e da gonadotrofina da menopausa humana (hMG) como agentes superovulantes em cabras (*Capra hircus LINNAEUS, 1758*) utilizadas em transferência de embriões. São Paulo: USP, 1992. 109p. Tese Mestrado.
- OLIVEIRA, V.S. DE; GONZALES, C.I.M. Transferência de embriões em caprinos. In: SIMPÓSIO NORDESTINO SOBRE CAPRINOS E OVINOS DESLANADOS, 1., 1992, Taperoá, PB. **Anais... Taperoá: Associação Paraibana dos Criadores de Caprinos e Ovinos**, 1992. p.21-31.
- OTSUKI, K.; SOMA, T. Transfer of fertilized ova through the cervix in goats. **Bulletin of National Institute of Animal Industry**, v.6, p.27-33, 1964.
- PEGORARO-RUMPF, L.M.; BEM, A.R. DE; RUMPF, R.; PEIXER, M.A.S. Coleta de embriões caprinos pelo método cirúrgico: resultados finais. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES, 7, 1992. **Anais... Jaboticabal, SBTE**, p.89, 1992.
- PEGORARO-RUMPF, L.M.; BEM, A.R. DE; RUMPF, R.; PEIXER, M.A.S.; DESCHAMPS, J.C. Comparação de diferentes crioprotetores na congelação de embriões caprinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES, 7, 1992. **Anais... Jaboticabal, SBTE**, p.95, 1992.
- PENDLETON, R.J.; YOUNGS, C.R.; RORIE, R.W.; POOL, S.H.; MEMON, M.A.; GODKE, R.A. The use of glycerol and sucrose for frozen goat embryos. **Animal Science Research Report**, v.7, p.113-116, 1986.
- PEREIRA, R.J.T.A.; LIMA, P.F.; SILVA, M.A.V.; WISCHRAL, A.; OLIVEIRA, M.A.L. Colheita de embriões caprinos por via transcervical. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 9., 1991, Belo Horizonte. **Anais... Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal**, 1991. p.314.
- PEREIRA, R.J.T.A.; SOHNREY, B.; HOLTZ, W. Influência da PGF_{2a} e oxitocina exógenas sobre colheitas de embriões por via transcervical na espécie caprina. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 24., 1996, Goiânia. **Anais... Goiânia: Sociedade Goiânia de Veterinária**, 1996. p.103-104.
- RAO, V.H.; SARMAH, B.C.; AGRAWAL, K.P.; ANSARI, M.R.; BHATTACHARYYA, N.K. Survival of goat embryos frozen and thawed rapidly. **Animal Reproduction Science**, v.16, n.3/4, p.261-64, 1988.
- REMI, B.; BARIL, G.; VALLET, J.C.; DUFOUR, R.; CHOUVET, C.; SAUMANDE, J.; CHUPIN, D.; BECKERS, J.F. Are antibodies responsible for a decreased superovulatory response in goats which have been treated repeatedly with porcine follicle-stimulating hormone **Theriogenology**, v.36, n. , p.389-399, 1991.
- RIBEIRO, V.M.F.; OLIVEIRA, M.A.L.; LIMA, P.F.; WISCHRAL, A. Vitriificação de embriões caprinos. **Revista do Centro Ciências Rurais**, v.19, p.20, 1989.

- ROSNINA, Y.; JAINUDEEN, M.R.; NIHAYAH, M. Superovulation and egg recovery in goats in the tropics. **Veterinary Record**, v.130, n.5, p.97-99, 1992.
- SALLES, H.O.; SIMPLÍCIO, A.A.; SANTOS, D.O. Embryo viability after induction or synchronization of estrus and superovulation in prepubertal and pubertal female goats. In: SCIENTIFIC MEETING OF EUROPEAN EMBRYO TRANSFER ASSOCIATION, 14., 1998, Venizia, Italy. **Proceedings...** Nouzilly: European Embryo Transfer Association, 1998. p.122.
- SALLES, H.O.; SOARES, A.T.; ANDRIOLI, A.; SIMPLÍCIO, A.A. 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, 12., 1997, Foz do Iguaçu, PR. **Anais...** Foz do Iguaçu: Sociedade Brasileira de Transferência de Embriões, 1997. p. 298.
- SALLES, H.O.; ANDRIOLI-PINHEIRO, A.; SOARES, A.T.; MOURA SOBRINHO, P.A.; MARQUES, M.A.J.; MORAES, J.B. Utilização da semi-laparoscopia na transferência de embriões em caprinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES, 11., 1996, Canela, RS. **Anais...** Canela: Sociedade Brasileira de Transferência de Embriões, 1996a. p. 215.
- SALLES, H.O.; SOARES, A.T.; MOURA SOBRINHO, P.A.; MORAES, M.A.J.; ANDRIOLI-PINHEIRO, A.; AZEVEDO, H.C. Redução do número de aplicações do flunixin meglumine no controle da regressão prematura de corpos lúteos em cabras superovuladas.. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 24., 1996, Goiânia, GO. **Anais...** Goiânia: Sociedade Goiânia de Veterinária, 1996b. p.113-114.
- SARMAH, B.K.; DUTTA, D.J.; GOSWAMI, J.; CHAKRAVARTY, P.; SARMAH, B.C.; GOSWAMI, R.N. Ovulation and embryo recovery response in superovulated acyclic goat. **Indian Veterinary Journal**, v.73, n.8, p.883-885, 1996.
- SIMPLÍCIO, A.A.; SALLES, H.O.; SANTOS, D.O. O regime de manejo na sobrevivência embrionária e na taxa de prenhez em receptoras caprinas, no Nordeste do Brasil. **Arquivo da Faculdade de Veterinária, UFRGS**, Porto Alegre, v.26, n.1, p.368, 1998.
- SIMPLÍCIO, A.A.; SANTOS, D.O.; SOUZA, T.E.F. DE; WANDERLEY, A.A.D. 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.
- SOARES, A.T. **Diferentes doses de flunixin meglumine na prevenção da regressão prematura de corpos lúteos em cabras superovuladas**. Recife: UFRPE, 1996. 73p. Tese Mestrado.
- SOARES, A.T.; SIMPLÍCIO, A.A.; ANDRIOLI-PINHEIRO, A.; SALLES, H.O.; MOURA SOBRINHO, P.A.; AZEVEDO, H.C. 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.
- SONG, H.B.; IRITANI, A. Studies on collection of ovulated eggs and follicular oocytes in the goat after treatments with gonadotropins. **Korean Journal Dairy Science**, v.8, n.4, 230-235, 1986.
- SUH, G.S.; KIM, J.K.; SHIN, W.J.; IM, K.S.; SUL, D.S. Studies on egg transfer in goat. **Research Reports of the Office Rural Development; Serie Veterinary & Sericulture**, Suwon, v.17, n.8, p.21-32, 1975.
- TERVIT, H.R.; GOOLD, P.G.; MCKENZIE, R.D. Development of an effective goat embryo transfer regime. In: New Zealand Society Animal Production, 1986. **Proceedings of the New Zealand Society Animal Production**, v.46, p.233-236, 1986.
- TERVIT, H.R.; GOOLD, P.G.; MCKENZIE, R.D.; CLARKSON, D.J. Techniques and success of embryo transfers in Angora goats. **New Zealand Veterinary Journal**, v.31, n.5, p.67-70, 1983.
- TERVIT, H.R.; GOOLD, P.G.; MCKENZIE, R.D.;

- CLARKSON, D.J.; DRUMMONDS, J. Embryo transfers in Angora and Saanen goats. *New Zealand Veterinary Journal*, v.33, n.5, p.78-80, 1985.
- TRALDI, A.S.; LEBOOOEUF, B.; BARIL, G.; COGNIÉ, Y.; POUGNARD, J.L.; MERMILLOD, P. Vitricificação: 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.
- TRALDI, A. S.; LEBOOOEUF, B.; POUGNARD, J.L.; BARIL, G.; MERMILLOD, P. Vitricificação: método alternativo para a criopreservação de embriões caprinos produzidos in vitro. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES, 12., 1997, Foz do Iguaçu, PR. *Anais... Foz do Iguaçu: Sociedade Brasileira de Transferência de Embriões*, 1997. p. 312.
- TRALDI, A.S.; VISINTIN, J.A.; MIZUTA, K.; DELA LIBERA, A.M.P. Utilização de anti-prostaglandínico 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
- TSUNODA, Y.; YASUI, T.; SUGIE, T. Production of monozygotic twins following transfer of separated half embryos in the goat. *Japanese Journal of Zootech. Science*, v.55, n.9, p.643-647, 1984.
- TSUNODA, Y.; TOKUNAGA, T.; SUGIE, T.; KATSUMATA, M. Production of monozygotic twins following the transfer of bisected embryos in the goats. *Theriogenology*, v.24, n.3, p.337-343, 1985.
- TSUNODA, Y.; SUGIE, T. Superovulation in nonseasonal Japanese native goats, with special reference to the developmental progression of embryos. *Theriogenology*, v.31, n.5, p.991-996, 1985.
- VALLET, J.C.; BARIL, G.; ROUGIER, F.; CHUPIN, D.; PROCUREUR, R.; CORTEEL, J.M. Feasability and repeatability of embryos recoveries from dairy goats under laparoscopy. In: REUNION ASSOCIATION EUROPEENSE DE TRANSFERT EMBRYONNAIRE, 3, 1987, Lyon. *Proceedings... Lyon*, 1987. p.159.
- VAN NIEKERK, C.H.; BARRY, D.M.; RUST, J.M.; VAN DER WALT, T; LANGENHOVEN, J. Cervical softening with prostaglandin E₂ and estradiol cypionate for embryo collection in goats. *Theriogenology*, v.33, n.1, p.348, 1990.
- WANG, G.; MA, B.; WANG, J.; QIAN, J.; ZHANG, Y. Embryo freezing and transfer in milk goats. *Theriogenology*, v.29, n.1, p.322, 1988.
- WARWICK, B.L.; BERRY, R.O.; HORLACHER, W.R. Results of mating rams to Angora female goats. *Proceedings American Society Animal Production*, Annual Meeting, 27, 1934. p.225-227.
- WARWICK, B. L.; BERRY, R. O. Inter-generic and intra-specific embryo transfers in sheep and goats. *Journal Heredity*, v.40, p.297-303, 1949.
- WISCHRAL, A.; LIMA, P.F.; OLIVEIRA, M.A.L.; RIBEIRO, V.M.F. Transfer-Encia de embriões caprinos. *Revista do Centro de Ciências Rurais*, v.19, p.19, suplemento, 1989.
- WOLFE, D. F.; NUSBAUM, E. E.; LAUERMAN, L. H.; MYSINGER, P. W.; RIDDELL, M. G.; PUTMAM, M. R.; SHUMWAY, L. S.; POWE, T. A. Embryo transfer from goats seropositive for caprine arthritis-encephalite virus. *Theriogenology*, v.28, n.3, p.307-316, 1987.
- YUSWIATI, E.; HOLTZ, W. Successful transfer of vitrified goat embryos. *Theriogenology*, v.34, n.4, p.629-632, 1990.