

Avanços na Transferência de Embriões em Caprinos e Ovinos de Corte no Brasil

Carmen Lara Mazzoni Gonzalez¹, Alice Andrioli-Pinheiro², Maria das Graças Gomes Cunha³

¹ Médica Veterinária, D.Sc., Empresa Estadual de Pesquisa Agropecuária da Paraíba - Emepa E-mail: carmenlgz@terra.com.br

² Médica Veterinária, D.Sc., Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos(Cnpq) - Sobral- Ceará E-mail: Alice@cnpq.embrapa.br

³ Zootecnista, M.Sc., Empresa Estadual de Pesquisa Agropecuária da Paraíba - Emepa E-mail: cunhammg@ig.com.br

Resumo - Atualmente, a caprino-ovicultura apresenta-se em crescimento tecnológico e expansão numérica nas diversas regiões do Brasil. O incremento de sua produtividade interligada ao melhoramento genético está atrelado ao emprego de diversas biotecnologias de reprodução assistida, a exemplo da transferência de embriões (TE), a qual reúne uma série de metodologias para o cumprimento de todas as etapas de condução. A TE encontra-se em plena atividade de desenvolvimento e crescimento no aprimoramento de execução por muitos técnicos em nosso país. Representa uma capacidade exequível na rápida multiplicação de animais portadores de características zootécnicas desejáveis por meio do aproveitamento intensivo de uma fêmea em fase de vida reprodutiva.

Advances in the Embryo Transfer in Goat and Sheep for Meat Production

Abstract - Nowadays, the breeding of sheep and goat is in expansion both technologically and numerically in various region of Brazil. The productivity increase of this activity is connected to genetic improvement and also to the use of many assisted reproduction biotechnologies, such as embryos transfer (ET), which is made up of a series of methods in order to accomplish the whole procedure. The ET is in fast growing and developing as well as improving its execution by many experts in our country. Its represents a tangible capacity of fast multiplication of animals bearing desirable zootechnical features by means of the intensive use of a female in reproductive life.

Introdução

O rebanho nacional de caprinos e ovinos é da ordem de 6.590.646 milhões e 13.954.555 milhões de cabeças. Deste efetivo a região Nordeste concentra o maior percentual em relação às outras regiões brasileiras, sendo 93,7% (6.176.457 milhões) e 48,1% (6.717.980 milhões), respectivamente, para caprinos e ovinos (IBGE, 1998). Entretanto, a caprino-ovicultura atualmente apresenta-se em crescimento tecnológico e expansão numérica nas diversas regiões do Brasil, sendo, respectivamente, 1,4 e 2,8%-região Norte; 2,4 e 2,8%-região Sudeste; 1,9 e 40,0% região Sul e 1,0 e 4,9% região Centro-Oeste (Vasconcelos & Vieira, 2001). Neste contexto, esta exploração existe como um agronegócio abrangendo a comercialização de leite, carne, peles e o processamento tecnificado e rigoroso controle de qualidade destes subprodutos, para o atendimento das exigências do mercado moderno e competitivo. O mercado também disponibiliza a venda de reprodutores e fêmeas de alta linhagem genética, germoplasma selecionado criopreservado como sêmen e embriões, desta forma, necessitando a otimização dos programas de melhoramento genético e a implementação de um sistema de criação baseado em tecnologias de ponta.

O elo entre a exploração básica e a produção final, direcionada a um mercado propente de abastecimento contínuo e primando pelo controle de qualidade, deve fundamentar-se na organização associativista no desenvolvimento das atividades agroindustriais, preservando a capacidade produtiva de cada região, respeitando as condições do eco-sistema favoráveis à criação de cada espécie animal e, enfocando a exploração em função das aptidões das diversas raças e / ou tipos raciais, visando o incremento no nível de organização e de gestão na unidade produtiva. A concretização de metas vislumbradas no avanço técnico está atrelada ao investimento da formação de difusores e qualificação da mão-de-obra essencial, maior agregação de produtores que adotem práticas de manejo melhoradas e racionais, com maior investimento financeiro inicial, desta maneira, conferindo posteriormente uma relação custo-benefício positiva.

Especialmente, na região Nordeste, a sazonalidade na ocorrência do período chuvoso e as secas periódicas impõem severas restrições ao suprimento de forragens e consequentemente à produtividade dos pequenos ruminantes (Araújo Filho & Silva, 2000). Esta particularidade edafoclimática associada com o não preenchimento do nível alimentar das pastagens do semi-árido nos requerimentos nutricionais, indispensáveis a estes animais são fatores críticos, para a maximização de sua produção qualitativa (Leite et al., 2000).

Outros fatores podem ser considerados importantes no manejo de caprinos e ovinos, como o não seguimento de um programa sanitário preventivo, falta de adaptabilidade e sobrevivência das crias ao meio ambiente adverso ao de origem de sua espécie e raça e, o não atendimento aos problemas inerentes quanto ao tipo de exploração e suporte para a manutenção do potencial biológico exigido dentro destas.

A transferência de embriões (TE) apresenta-se como uma biotecnologia de reprodução assistida atual e em plena atividade e crescimento no aprimoramento de execução em todas as suas etapas no Brasil. Representa uma capacidade exequível na rápida multiplicação de animais portadores de características zootécnicas desejáveis, por meio do incremento de aproveitamento de uma fêmea durante a sua vida reprodutiva.

CRITÉRIOS PARA A EXECUÇÃO DA TE

A transferência de embriões (TE) é um método de reprodução melhorada que associa diversas biotecnologias e possibilita a multiplicação acelerada de indivíduos geneticamente superiores, solução para diferentes objetivos de ordem genética, comercial e sanitária, porque, nos primeiros estágios de desenvolvimento o embrião é beneficiado por uma proteção natural contra os agentes infecciosos externos (Baril, 1995). Também, permite a redução do intervalo entre gerações por possibilitar a colheita de embriões de fêmeas caprinas jovens e pré-púberes (Salles et al., 2000). Rodrigues (1997), expõe em termos gerais os seguintes aspectos a serem considerados na organização de um programa de TE: a) recursos humanos-equipe com experiência em TE e pessoal de apoio nas propriedades devidamente treinado; b) recursos materiais compatíveis às necessidades do trabalho; c) condições nas propriedades de manejo, alimentação e controle sanitário nos animais envolvidos; d) seleção criteriosa de doadoras e receptoras e reprodutores para a monta natural ou doadores de sêmen.

O trabalho de rotina exige um período mínimo de três meses para a organização da infra-estrutura, animal, material e humana. A relação custo/benefício está na dependência direta do estabelecimento de alguns critérios para a execução da TE (Ishwar & Memon, 1996; Russel, 1998): 1) colheita/doadora/ano: levando-se em consideração a fisiologia do ciclo estral e a manutenção do equilíbrio endócrino nas doadoras, respeitando um intervalo entre cada programa de 60 dias, podem ser realizadas quatro a cinco colheitas /doadora/ano. 2) embriões viáveis: a espécie caprina pode produzir uma média de sete embriões viáveis/colheita/doadora. Esta média pode variar em função de doadoras que apresentam um número elevado de multiovulações

por tratamento superovulatório e o método de lavagem dos embriões. 3) seleção de doadoras: 3a) Genótipo: se possível realizar a cariotipia para exclusão das fêmeas que apresentem algum tipo de anormalidade cromossômica; 3b) Fenótipo: a doadora deve possuir um fenótipo considerado superior dentro da raça, considerando-se a habilidade de transmissão destas características. 3c) saúde reprodutiva: ter conhecimento da ocorrência de no mínimo dois ciclos estrais regulares antes de cada programa. 3d) saúde geral: cumprir calendário de saúde preventiva. 3e) peso corporal: o peso mínimo para cabras da raça Bôer é 30 kg e ovelhas 40 kg. 4) seleção de receptoras: adquirir fêmeas oriundas de rebanhos indenes de doenças infecto-contagiosas. Aplicação de controle sanitário básico, controle de dois ciclos estrais antes do tratamento hormonal e estas devem ser preferencialmente utilizadas em um único programa. Evidências sugerem que o preparo correto das receptoras é responsável por 50% do sucesso na sobrevivência embrionária. 5) Resposta ao tratamento superovulatório: a variabilidade individual da doadora é em muitos casos uma barreira para a eficiência das gonadotrofinas exógenas no recrutamento, crescimento, maturação e ovulação dos folículos (Baril et al. 1993). 6) Fecundação das doadoras: a fecundação de doadoras caprinas pode ser por monta natural controlada, é um método eficaz quando realizado duas vezes por dia, a partir do início do estro, a intervalos de 12 horas. No caso da inseminação artificial (IA) são recomendados horários entre 20 -24 horas após a exteriorização do estro (Vallet & Baril, 1990). Steyn (2000) descreve horários mais tardes, 30 -36 horas para caprinos e 24 -30 horas para ovinos, seguido o término do tratamento progestativo. 7) Colheita dos embriões: esta manipulação deve ser executada por técnico treinado, de maneira mais asséptica e habilidosa possível, pois devemos preservar a viabilidade dos embriões obtidos e a integridade do sistema genital da fêmea. 8) Avaliação morfológica dos embriões: esta é em primeira instância a única característica que possibilita ao técnico realizar um prognóstico quanto a viabilidade destes, constituindo-se em pré-requisito imprescindível na obtenção de taxas de prenhez satisfatórias. 9) Inovação: em todas as suas formas é um ato cirúrgico e como tal necessita de medicação anestésica e assepsia.

CONTROLE SANITÁRIO - POTENCIAL DE TRANSMISSÃO DE PATÓGENOS VIA TE

As importações de caprinos de raças exóticas, procedentes de vários países, buscando o incremento do potencial genético dos nossos rebanhos, têm possibilitado também a introdução de novas doenças infecciosas no Brasil, como foi o caso da Artrite Encefalite Caprina - CAE (Assis & Gouveia, 1994). Da mesma forma, é crescente a preocupação mundial com relação à disseminação de enfermidades, seja, através do comércio de animais ou de germoplasma, o que tem reforçado as barreiras sanitárias entre os Países, pois o impacto resultante da entrada de novos patógenos ou cepas pode ser vital para a economia (Thibier, 2001).

Com o desenvolvimento das técnicas de transferência de embriões e, principalmente, da criopreservação tornou-se evidente que a comercialização de embriões iria se expandir mundialmente e este fato, levou a Sociedade Internacional de Transferência de embriões (IETS) a avaliar o potencial para transmissão de diferentes patógenos através da transferência de embriões (TE) e de criar medidas para evitar ou diminuir a possibilidade de veiculação destes pela TE, os quais foram baseadas em estudos científicos até então realizados sobre a presença e a transmissão de patógenos pelo embrião (Stringfellow & Seidel, 1999).

A dificuldade de estabelecer as normas sanitárias para a comercialização de embriões se deve, dentre outras, aos seguintes fatores:

- escassez de pesquisa sobre a presença de diferentes patógenos no embrião, no meio de colheita ou de cultivo, e que poderiam ser transmitidos pela técnica de TE e quais seriam as medidas para evitar a disseminação de enfermidades por esta técnica;

- aprimoramento dos métodos de diagnóstico para diferentes microrganismos que possuam alta sensibilidade e especificidade e que sejam executáveis e de baixo custo, para o monitoramento de reprodutores de matrizes para TE;

- desenvolvimento de legislações que obriguem o cumprimento das normas sanitárias para o controle de enfermidades.

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 zona pelúcida, ou que esteja presente nos fluidos no qual os embriões são recolhidos, manipulados, criopreservados ou transferidos (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 carregados 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) tem sido considerada uma barreira aos patógenos, de forma que a IETS recomenda apenas o uso de embriões com a ZP íntegra, sendo esta uma característica crítica na determinação do estado de sanidade dos embriões. Segundo o protocolo da IETS, os embriões após avaliação da integridade da ZP devem ser lavados, objetivando a retirada dos possíveis patógenos aderidos (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.

Embora sejam escassas e pouco concludentes, as pesquisas realizadas com pequenos ruminantes sobre a possibilidade de veiculação de patógenos pela TE, utilizando doadoras infectadas e receptoras sadias, apontam para resultados positivos, desde que seja realizada a lavagem dos embriões, sugerindo que a TE é um método rápido e seguro de obtenção de crias sadias de animais infectados, podendo ser até uma solução para a obtenção máxima de material genético de matrizes infectadas de alta produção, deste que sejam obedecidas, rigorosamente, as normas sanitárias da IETS (Quadro 1).

Quadro 1. Transmissão de enfermidades através da transferência de embriões de doadoras infectadas para receptoras sadias.

Agente	Nº lavagens dos embriões	Transmissão Receptoras	Transmissão Crias	Referência
<i>Embriões caprinos</i>				
CAEV	03	Negativo	Negativo	Wolfe et al., 1987
CAEV	10	Negativo	Negativo	Andrioli et al., 2002
Língua Azul	10	Negativo	Negativo	Chemineau et al., 1986
<i>Embriões ovinos</i>				
<i>Scrapie</i>	00	Negativo	Positivo	Foster et al., 1992
<i>Scrapie</i>	03	nr	Negativo	Footo et al., 1993
Língua Azul	4	Positivo	Negativo	Gilbert et al., 1987
Maedi Visna	nr	Negativo	Negativo	Dawson 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*. Importantes diferenças na propriedades da ZP, foram também observadas 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) (Quadro 2).

Quadro 2. Infectividade de embriões após exposição in vitro ao patógeno e posterior lavagem

Patógeno	Nº embriões expostos (n)	Embriões portando patógeno	Referência
Embriões com zona pelúcida intacta			
Vírus da doença de Border	49	Negativo	Evermann et al., 1981
Vírus da BVD	49	Negativo	Evermann et al., 1981
<i>Brucella abortus</i>	53	4%	Riddel et al., 1989
<i>Brucella ovis</i>	nr	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	Negativo	Guerin et al., 1988
Lentivírus caprino	nr	Negativo	Lamara et al., 2002
Embriões sem zona pelúcida			
Vírus da doença de Border	49	Negativo	Evermann et al., 1981
Vírus BVD	23	Negativo	Evermann et al., 1981
Lentivírus caprino	nr	Positivo	Lamara et al., 2002

* Embriões não expostos a antibiótico

** Embriões expostos a antibiótico

nr - não relatado

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 o vírus da artrite encefalite caprina (CAEV) pelas técnicas de isolamento viral e pela Reação em Cadeia da Polimerase Nested (PCRn), em amostras de embrião lavado, embrião não lavado e na solução do último banho de lavagem dos embriões.

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) e Fiene et al. (2002), que detectaram a presença do DNA-proviral do CAEV nos lavados uterino e de oviduto de cabras superovuladas e portadoras do vírus. Fiene et al. (2003) pesquisando o DNA-proviral do CAEV em amostras de tecidos de cabras contaminadas, identificaram a sua presença em 88% da amostra de glândula mamaria, 56% do útero e 64% do oviduto, sendo que 76% das amostras possuíam o DNA-proviral em um dos dois tratos uterinos. Estes estudos demonstram o risco da transmissão materno fetal de patógenos presentes no meio uterino.

A possibilidade de infecção de embriões oriundos da técnica 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, são obtidos de ovários de cabras de abatedouros e como a ZP de embriões produzidos in vitro parece ser

mais permeável *as in vivo*, é importante verificar se a presença do lentivírus pode influenciar o desenvolvimento dos embriões em cultura e / ou infectá-lo representando uma nova fonte de disseminação da CAE. Posteriormente, Lamara et al. (2002) comprovaram que a ZP de embriões caprinos obtidos *in vivo* é uma eficiente barreira ao CAEV, pois na sua pesquisa, observaram que somente os embriões sem ZP e contaminados *in vitro* com o CAEV foram capazes de causar efeito citopático característico em culturas de células, o que não ocorreu com os embriões com ZP íntegra e, do mesmo modo, submetidos a contaminação com o vírus.

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

O custo-benefício do uso de animais doentes em programas reprodutivos deve ser criteriosamente analisado (Andrioli, 2001), pois além do problema sanitário propriamente dito, o uso de animais ou germoplasma contaminados pode reduzir as respostas reprodutivas à 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 diarréia viral bovina (BVD).

Fieni et al. (2002) não encontraram diferença na taxa de recuperação de embriões entre fêmeas com ou sem CAE. No entanto, Andrioli (2001) obteve baixa taxa de recuperação de estruturas (49,6%) colhidas de cabras superovuladas e CAEV positivas, sendo que 49,2% das estruturas eram ovócitos. Andrioli (2001) relata também que as taxas de prenhez e de natalidade obtidas, tanto de embriões 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 o uso da TE com cabras contaminadas com CAEV, mesmo apresentando baixos índices reprodutivos, justifica-se pelo fato de ser uma importante ferramenta para obter crias de reprodutores e matrizes de alto valor genético e como forma de controle da enfermidade no rebanho (Andrioli et al., 2002; Cognié et al., 2003).

NUTRIÇÃO DE DOADORAS E RECEPTORAS

A capacidade produtiva animal, além da genética, é dependente de muitos fatores, dentre eles os nutricionais, portanto, para a obtenção de elevados níveis de produtividade todos os componentes da dieta devem ser fornecidos ao menos nas quantidades mínimas exigidas, pois, todos os nutrientes são importantes, mesmo aqueles exigidos em menor escala, variando em função da espécie, idade, condição corporal e nível de produção. Para melhorar a eficiência de produção o conhecimento das exigências nutricionais em cada estágio da vida do animal é imprescindível para a aplicação das estratégias de alimentação. O programa nutricional para superovulação de doadoras e preparação das receptoras deve assegurar que, as mesmas recebam uma dieta balanceada com todos os nutrientes para atender as necessidades um pouco acima do nível de manutenção no decorrer deste. Após a seleção dos animais o flushing deve ser iniciado três a quatro semanas antes do tratamento hormonal, visando estimular a taxa de ovulação, e nas receptoras prosseguir duas a três semanas após a transferência prevenindo a mortalidade embrionária. Em caprinos e ovinos a taxa de ovulação e o número de embriões vivos é um dos fatores determinantes na performance reprodutiva, a qual é altamente dependente da condição corporal, conseqüentemente, do aporte nutricional; as variações observadas na resposta ao flushing estão diretamente correlacionadas com a condição corporal no início do mesmo, ingredientes usados para compor a dieta, ao tempo de suplementação, como também a raça. As pesquisas têm mostrado que a energia normalmente é o principal nutriente a afetar a taxa de ovulação e na

sequência a elevação protéica com proteína by pass pode incrementar essa taxa. Segundo Waghorn et al. (1990), a resposta a suplementação protéica deve-se ao aumento na retenção de nitrogênio, ocasionando elevação na concentração plasmática de alguns aminoácidos essenciais e a taxa de ovulação é altamente correlacionada com esses níveis sanguíneos. Todavia, o excesso de proteína no início da gestação pode aumentar as perdas embrionárias tanto quanto o déficit. Além da proteína e energia outros nutrientes podem intervir na sobrevivência dos embriões, entre eles o selênio que tem ação direta sobre a mortalidade embrionária(Borges, 2000), em ovinos existe evidências que a deficiência de cobalto, nas matrizes se traduz em ovários atfuncionais e baixas taxas de concepção, e crias com reduzido vigor e peso ao nascer assim como baixa imunidade passiva às doenças (Fisher & MacPherson,1991), devendo ser fornecido continuamente, pois não é acumulativo, cerca de 3% do cobalto ingerido é convertido em B12, a qual está diretamente correlacionada com o metabolismo do propionato.

Programas nutricionais para serem utilizados nas biotécnicas reprodutivas de caprinos e ovinos ainda não estão definidos, entretanto, os resultados de pesquisas na região do semi-árido do estado da Paraíba, indicam um consumo diário de matéria seca 3% do peso vivo, 3,6 Mcal de energia metabolizável ; 157 gramas de proteína e uma mistura mineral própria para cada espécie com um consumo diário de 5,5 g de cálcio e 2.9 g de fósforo.

PROTOCOLOS UTILIZADOS PARA A SUPEROVULAÇÃO DE DOADORAS

Os ovários dos mamíferos contém centenas de milhares de oócitos, entretanto, o número de descendentes de uma fêmea é bastante reduzido em relação a este potencial de prolificidade. Dentro desta temática a aplicação de métodos para induzir ovulações múltiplas em momentos pré-determinados, tem se convertido em objeto de estudo, em consequência do êxito da TE encontrar-se na dependência direta do processo superovulatório, sendo este uma de suas etapas mais críticas (Coletto et al.,1999). No entanto, existe a influência de diversos fatores na resposta ovariana, frente ao recrutamento e crescimento de um maior número de folículos e maturação final destes (Moor et al.,1984)e desta forma, a ocorrência de multiovulações nos pequenos ruminantes domésticos são obtidas, principalmente a partir da administração de extratos pituitários cru ou solúvel de equinos, suínos e ovinos. A origem e o grau de contaminação de LH na solução, a partida, a dose, raça, idade, variação individual, fase de lactação, condição sanitária e época do ano, são fatores citados como responsáveis pela eficácia do tratamento superovulatório (Armstrong & Evans, 1983; Corteel et al.,1988; Baril et al.,1993; Oliveira, 1992; Baril, 1995; Salles et al.,1997).

A possibilidade de aplicação única e menor custo da gonadotrofina coriônica equina(eCG) manteve seu uso por longo tempo. Todavia, os resultados de superovulação não foram satisfatórios quanto a qualidade de ovulação, ou mesmo falha em sua ocorrência e viabilidade estrutural dos embriões(Arnstrong & Evans, 1983;Moor et al.,1985; Walker et al.,1986). Doadoras caprinas foram tratadas com eCG, em três doses diferentes, 400 - 750 - 1000UI. As respectivas médias de ovulação foram 8,4±3,6; 11,8±7,3 e 12,5±7,6 (Coletto et al.,1999; Lima et al., 1999). Em todas as doses o início do estro foi antecipado para 12 a 30 horas após o tratamento com progestágenos. Esta característica é atribuída a aplicação única desta gonadotrofina possibilitar o rápido crescimento folicular e elevar os níveis sanguíneos de estradiol (Tamanini et al.,1985),desta forma, poderia não haver a sincronia do estágio fisiológico entre as receptoras e o estágio de vida dos embriões colhidos.

Os extratos hipofisiários originados de suínos e ovinos conferem resultados mais constantes no que diz respeito ao número de corpos lúteos formados e um número maior de embriões por programa (Armstrong et al., 1983a;1983b; Pedlenton et al.,1992).

O grau de contaminação de LH na solução do hormônio folículo estimulante (FSH) pode desencadear uma resposta ovariana indesejada como a funcionalidade prematura de oócitos. Estes

poderiam em parte ser mantidos em folículos luteinizados e outra parte serem ovulados, fecundados, mas, seriam considerados de qualidade inferior por serem embriões velhos por ocasião da colheita (Moor et al., 1984). A contaminação de LH no preparo de FSHp de até 40% não interfere na taxa de ovulação e no número de embriões recolhidos (Nowshari et al., 1995). O FSHp é aplicado em caprinos em concentrações que variam de 16 a 18mg (padrão ARMOUR). A resposta ovulatória média é geralmente compreendida entre 12 a 16 ovulações, todavia, qualquer que seja o tratamento imposto existe grande variação na resposta individual (Brebion et al., 1992). O esquema recomendado difere segundo a origem do FSH. No caso do FSHp(suíno) a quantidade total administrada é dividida em doses decrescente, as quais necessitam permanecer na corrente sanguínea da fêmea por tempo suficiente para promover a concentração das ovulações (Baril, 1995). Baril et al. (1989) demonstraram que o aporte crescente de LH no final do tratamento otimiza a estimulação ovariana e a produção embrionária em cabras das raças Alpina e Saanen. A utilização do FSHovino preconiza sua aplicação em oito doses constantes no cumprimento do protocolo (Baril, 1995). Em cabras da raça Bôer e ovinos da raça Dorper é descrito o uso deste tipo de FSH, 52% da concentração total da dosagem nas duas primeiras aplicações (Steyn, 2000).

Em doadoras permanentes a administração repetida de FSHp desencadeia a ocorrência de anticorpos contra esta glicoproteína. Esta resposta imunitária provoca uma diminuição do número de ovulações em 40 a 50% das fêmeas a partir do segundo ou terceiro tratamento efetuado a intervalo de 42 a 55 dias em caprinos (Baril et al., 1989; Remy et al., 1991) e em ovinos (Torres & Sevellec, 1987). A indução repetida de multiovulações com FSHovino ou caprino não provoca reação imunológica, devido ser uma gonadotrofina homóloga à espécie (Baril et al., 1992b). Pinheiro et al. (1996) não encontraram alteração na taxa de ovulação, seguidos três tratamentos repetidos a intervalo de 56 dias.

A utilização do protocolo convencional em cabras tem conferido médias de ovulações de: 12,5±6,2; 14,0±6,0 e 11,5±2,4, respectivamente para a aplicação de 16, 18 e 12 mg de FSHp (Lima et al., 1996; Soares, 1996; Lima et al., 1999). Andrioli-Pinheiro et al. (2000) trabalhando com repetidas ovulações constataram que a repetição dos tratamentos superovulatórios diminuiu a taxa de manifestação de sintomas de estro, porém, não afetou a taxa de ovulação e reduziu a ocorrência de corpos lúteos regredidos, sugerindo, a possibilidade de tratamentos hormonais no intervalo de dois meses.

Gonzalez et al. (2002) demonstraram a viabilidade da estimulação ovariana em 10 ovelhas da raça Santa Inês, após o tratamento com 10,8mg de FSHp, dividido em seis aplicações. A média de ovulação obtida foi 14,90±4,60; embriões viáveis 14,20±4,77 e taxa de prenhez de 50%. Silveira & Kozicki (2001) obtiveram resultados inferiores de ovulações (10,6±2,8) e de embriões colhidos (5,4%) em ovelhas da raça Suffolk.

Com o objetivo de simplificar a execução no protocolo de superovulação, minimizando o número de aplicações, prática considerada fator estressante aos animais, alguns experimentos têm sido desenvolvidos com o uso do FSH em solução à base de polivinilpirrolidona a concentrações entre 25 - 30%, com o objetivo de potencializar o efeito desta gonadotrofina por um período maior, mesmo após aplicação única. Os resultados médios de ovulações descritos para ovinos e caprinos são 8,6±4,8; 7,0%; 2,2%; 1,75 a 3,3% e 5,4% (Datena et al., 1994; Santos et al., 1999; Santos et al., 2000a,b; Silva et al. 2001). Estes resultados mostraram-se insatisfatórios na indução de multiovulações e, desta forma, economicamente incompatíveis com os custos dispendidos nos programas de TE.

A ocorrência de regressão prematura de corpos lúteos em fêmeas caprinas superovuladas ainda é uma realidade no Brasil. Este fato é um entrave crítico na eficácia da recuperação dos embriões produzidos (Traldi et al. 1995; Pintado et al., 1998; Gonzalez et al., 2001). Desta forma, é rotina a inclusão de substâncias anti-prostaglandínicas nos protocolos de superovulação. Estas podem ser hormonais como a aplicação de progesterona em dispositivos vaginais em doses de 50 a 60mg (Gilbert et al., 1990; Gonzalez et al., 2002) ou uma substância com alto potencial anti-

Luteolítico, o flunixin meglumine, que possui a propriedade de inibir seletivamente a enzima ciclo-oxigenase, ação essa que resulta na reduzida síntese de prostaglandina (Odensvik et al.1989). Recomenda-se a aplicação de doses entre 1,1mg/Kg a 2,2mg/Kg de peso vivo, a partir das 72 horas após a suspensão do tratamento progestativo, a intervalos de 12 horas, durante três a cinco dias consecutivos (Soares, 1996; Andrioli-Pinheiro et al., 1996b; Soares et al., 1998). A eficácia no controle da regressão prematura de corpos lúteos com a redução da dose para 1,1mg/kg de peso vivo, a intervalo de 24 horas durante três ou quatro dias seguidos foi descrito por Salles et al.(1998c) e Simplicio et al.(1999).

SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO E OVULAÇÃO DE RECEPTORAS

Russel (1998) descreve em sua revisão sobre os programas de transferência de embriões em caprinos da raça Boer e ovinos que 50% do sucesso desta são atribuídos ao preparo sanitário, nutricional e manejo das receptoras pré e pós inovulações. Entretanto, muitos são os fatores envolvidos na obtenção positiva do resultado final que é a taxa real de natalidade. Dentre eles, Baril et al.(1993) citam a qualidade e o número de embriões transferidos, o local do útero para a deposição destes, tempo transcorrido entre a colheta, manipulação dos embriões e a inovulação, sincronia da fase do estágio fisiológico da receptora e a idade dos embriões e a qualidade dos corpos lúteos. A maior sobrevivência embrionária é diretamente atrelada à qualidade dos corpos lúteos produzidos(Armstrong & Evans,1983),e o seu número, sendo descrito taxas de sobrevivência de 75,0% na presença de três contra 51,6% na presença de apenas um (Armstrong et al.,1983b).

O tempo de ocorrência do estro depende de fatores como a raça, idade, estação do ano, tipo de tratamento para a sua sincronização,dose, momento de aplicação da gonadotrofina exógena, presença do ruído e condição nutricional das fêmeas (Evans & Maxwell, 1988).Com base no conhecimento da variabilidade nas respostas desejadas no controle da fase lútea, a progesterona natural ou os progestágenos são empregados em dispositivos intravaginais, acetato de medroxiprogesterona (MAP) e acetato de fluorogestona (FGA) e os implantes auriculares, norgestomet (NOR). As doses recomendadas são 45mg de FGA, 50 a 60mg de MAP e 3mg para o NOR (Armstrong et al.,1983b; Baril et al.,1989; Seen & Richardson,1992).

O tratamento progestativo pode ser de 10 a 12 dias (curto) ou 17 a 21 dias(longo) para a espécie caprina e 14 a 16 dias para a espécie ovina (Evans & Maxwell, 1988). Em caprinos este tratamento pode ser associado à administração de prostaglandina F2alfa ou de seu análogo sintético o cloprostenol, quando do uso do método curto (Machado et al.,1996; Lima et al.,1997).

Scaramuzzi et al.(1993) sugerem que a taxa de ovulação é controlada pelo recrutamento de limitado número de folículos gonadotrofina dependentes com aumento na sua exigência. Quando a ovulação é induzida em ovelhas em anestro sazonal , somente os folículos antrais que estão presentes no momento da administração do hormônio gonadotrófico podem responder à ovulação (McNeilly et al.,1991). Desta forma, a indução da ovulação no final da fase lútea é usualmente feita com a aplicação única da eCG em doses que variam principalmente em função da raça, aptidão de produção e época do ano (Baril & Saumande, 2000).

Salles et al. (1997) não encontraram diferença na taxa de sincronização de estro natural(efeito macho), 80,28% e estro sincronizado artificialmente(45mg de FGA + 50µg de cloprostenol + 200UI de eCG), 90,0%. Contudo, no lote de fêmeas sincronizado artificialmente a taxa de ovulação foi 90,0% e a do natural 64,6%.

A consideração da época do ano no preparo de receptoras é de suma importância em programas de TE com embrião fresco, uma vez que, a reduzida resposta ovulatória pode comprometer seriamente a transferência dos embriões colhidos. Cavalcani et al.(1999)conduziram um estudo da dinâmica folicular de cabras das raças Parda Alpina e Toggenbourg durante a estação

seca e constataram que os maiores folículos mediam 1 a 5mm, tamanho não compatível ao de folículos pré-ovulatórios.

Estudos comparativos com caprinos entre o uso de esponjas intravaginais impregnadas com 60mg de MAP e 3,0mg de NOR (implante auricular) mostraram não haver diferença na ocorrência de estros, os quais apresentaram percentuais altamente satisfatórias, respectivamente de 100 e 90% (Guido et al., 1999). Foram encontrados valores médios de ovulações de 2,25±2,05 e 1,75±1,03, na ordem do uso MAP e NOR (Rabelo et al., 1999).

Soares et al. (2001) alcançaram média de ovulação de 1,2±0,69 seguido o tratamento hormonal com o uso do dispositivo vaginal - CIDR'S (durante 17 dias) + 400UI de eCG em 221 receptoras caprinas, as quais receberam embriões criopreservados oriundos da África do Sul. Gonzalez et al. (2001) utilizando protocolo de sincronização similar obtiveram percentagens de estro entre 83,33 a 94,87% e taxas de partições entre 48,00 a 85,71%, após a inseminação artificial transcervical com sêmen fresco em caprinos. Em ovinos deslanados a associação de 30mg de FGA ou 50mg de MAP com 200 a 400UI de eCG têm resultado em taxas de estro de 55 a 95% (Dias et al., 1999; Pinheiro et al. 2001).

COLHEITA E INOVULAÇÃO DE EMBRIÕES

A colheita de embriões pode ser feita por três métodos, laparotomia, laparoscopia (cirúrgicos) e pela via transcervical (Oliveira, 1992; Ishwar & Memon, 1996; Lima et al., 1996; Pinheiro et al., 1996; Gonzalez et al., 2002). Os procedimentos cirúrgicos são técnicas invasivas limitando a possibilidade de repetidas colheitas em uma doadora, em virtude da ocorrência de aderências entre o sistema genital e tecidos circunvizinhos, principalmente o epiploon (Pinheiro et al., 1996). São relatadas a ocorrência de aderências no infundíbulo, ovários e órgãos anexos, quando estes métodos são utilizados repetidas vezes (Tervit et al., 1983; Potes, 1989). Steyn et al. (1993) constataram que a colheita por laparotomia prejudicou a fertilidade de ovelhas em estações de monta subsequente, sendo que as fêmeas receberam maior número de coberturas e apresentaram menores percentuais de fertilidade.

A via transcervical para a recuperação dos embriões é atualmente a mais usada em caprinos e desde a demonstração de permeabilidade da cérvis por Bondurant et al. (1984), inúmeros são os procedimentos empregados para o aprimoramento deste método (Pereira et al., 1991; Oliveira, 1992; Pinheiro et al. 1996; Lima et al., 1997).

Segundo Scudamore et al. (1991) os diferentes métodos de colheita dos embriões, bem como as variações dentre eles, acarretam diferentes resultados quanto ao número de embriões recuperados, maior ou menor grau de lesão ao sistema genital da doadora. Além disto, há interferência de outros fatores, como os equipamentos, a presença de corpos lúteos regredidos, variação individual, o intervalo entre a inseminação artificial e a colheita e o tratamento superovulatório.

Pinheiro et al. (1996) obtiveram taxa de recuperação embrionária de 24,0%, para os três métodos, com base no número de corpos lúteos totais. Quando consideraram somente os corpos lúteos ativos a taxa aumentou para 51,6%. A colheita pela via transcervical com o animal em decúbito e em estação conferiu taxas de recuperação embrionária respectivas de 86,5 e 89,7% (Lima et al., 1996).

Pereira et al. (1998) descreveram a técnica transcervical para a recuperação de embriões em caprinos, com a fêmea em estação, sem administração de medicamentos anestésicos e aplicação de prostaglandina F2alfa 16:00 horas antes e oxitocina no momento do início da colheita, com o objetivo de facilitar a penetração da entrada da cérvis e deslize do catéter ao longo dos cornos uterino. A taxa de recuperação embrionária foi 91,0%. Esta técnica foi posteriormente aprimorada por Holtz et al. (2000), sendo a aplicação da prostaglandina feita 20 horas antes da lavagem e

contenção maior da fêmea no tronco e o tempo médio da colheita estabelecido em 40 minutos. Gonzalez et al. (2001) empregaram esta técnica e recuperaram 48 embriões de cinco cabras da raça Bôer, com média de 9,6 estruturas por animal. Em um segundo programa recuperaram 51 embriões de quatro cabras mestiças, com média de 12,75 por fêmea.

Salles et al. (2001) desenvolveram uma técnica transcervical de colheita de embriões em cabras em circuito fechado, o qual permitiu executar de maneira contínua, prática, asséptica e segura a colheita com um maior volume de meio, em média de 100ml por corno uterino, minimizando a contaminação ou perda dos embriões recolhidos. Citam uma média de 7,8 estruturas recuperadas por doadora. Gonzalez et al. (2002) adotando o método do circuito fechado para a lavagem de três cabras da raça Bôer, recuperaram 32 estruturas, com média de 10,6 por animal.

Atualmente, a inovulação é mais usualmente executada por laparoscopia. Este método possibilita a avaliação dos ovários, a exposição da junção útero - tubárica ipsilateral ao ovário com o maior número de corpos lúteos funcionais e a transferência para este corno de dois embriões. Este procedimento minimiza a ocorrência de aderências pela manipulação excessiva do sistema genital quando a deposição dos embriões é feita por laparotomia. Salles et al. (1996a), descreveram a semi-laparoscopia como técnica alternativa e segura para a inovulação em caprinos.

VIABILIDADE DE EMBRIÕES CRIOPRESERVADOS

A possibilidade atual da utilização de embriões criopreservados oriundos de doadoras com linhagem genética existente em outros países e mesmo de animais disponíveis no Brasil, transpõe as barreiras do tempo e do espaço, impondo-se como uma biotecnologia reprodutiva de ponta (Gonzalez et al., 2001a; Gonzalez et al. 2003).

Segundo Simplício & Santos (2000), a criopreservação de embriões favorece as seguintes oportunidades: importação e exportação de germoplasma, dispensando o transporte de animais e suas implicações; transferência de embriões para fêmeas em estro natural; a preservação de embriões colhidos excedentes; a adequação da época de partos, independentemente da data da colheita dos embriões; formação de banco de germoplasma de espécies e/ ou raças em perigo de extinção, a comercialização, o transporte e a disseminação de material genético entre produtores, regiões e países, com o mínimo de risco de introdução e/ou disseminação de doenças.

Em caprinos o processo lento, conhecido como clássico é o mais usual para a criopreservação de embriões (Baril et al., 1989; Le Gal et al., 1993; Fiéni et al., 1995). Este método exige a redução gradativa da temperatura ambiente até -35OC no período de uma a duas horas, na solução com o crioprotetor, sendo o etilenoglicol o mais eficaz em relação ao glicerol. A remoção do crioprotetor e a reidratação do embrião após a descongelação devem ser procedidas em placa, com a associação da sacarose em concentrações que variam de 0,25M -0,5M -1,0M em uma única etapa (Massip, 2000).

No Brasil, Salles et al. (1997a) descreveram pela primeira vez o nascimento de caprinos (30,8%), após a transferência de embriões congelados e descongelados com o método clássico.

A transferência de embriões caprinos criopreservados da raças Savanna e Boer e ovinos das raças Dorper e Damara de alta seleção genética, pela transposição da barreira do espaço é realidade presente no Brasil desde 1999. Este trabalho vem sendo executado através do intercâmbio entre a Central de tecnologia de embrião e sêmen - Ranssem - África do Sul, com a Emepa-Pb e particulares dos estados da Paraíba, Pernambuco e Rio Grande do Norte. Este intercâmbio iniciou na segunda quinzena de novembro de 1999, sendo inovulados 202 embriões ovinos Dorper, 54 embriões caprinos Bôer e 80 embriões caprinos Savanna, sendo a Emepa-Pb, pioneira a introduzir esta raças no Brasil. Gonzalez et al.(2001) descreveram os resultados deste trabalho, das 67 receptoras caprinas inovuladas, 33 ficaram prenhes (49,25%), 19 receptoras tiveram partos simples(28,35%) e 14 partos duplos(20,90%).Com relação ao estádio destes embriões inovulados

Soares et al.(2002) constataram que os embriões em estágio de blastocisto apresentaram melhores resultados, 49,15%(29/59),seguidos de 33,33%(1/3) para blastocisto inicial; 28,12%(18/64) para blastocisto expandido e 11,1%(1/9) para mórula. Neste contexto, das 101 receptoras ovinas inovuladas, as quais receberam 202 embriões, 70 ficaram prenhes(69,30%), 40 fêmeas apresentaram partos simples(57,14%) e 30 partos duplos(42,86%). No mesmo período do ano de 2001, 18 fêmeas receberam 36 embriões caprinos da raça Savanna, obtendo-se 50,0% de partição (13 crias nascidas) e 10 receptoras receberam 20 embriões ovinos da raça Damara, conferindo 90,0% de partição(14 crias nascidas).

Em outro trabalho conjunto entre a Emepa-Pb, Ramsem e particular, Gonzalez et al. (2003) descreveram a transferência de 276 embriões ovinos da raça Dorper congelados-descongelados, oriundos da linhagem africana, foram inovulados em 95 receptoras, das quais 67 ficaram prenhes(70,5%). Estes resultados satisfatórios confirmam a possibilidade da TE com embriões criopreservados, dispensando quando conveniente o programa com doadoras para a colheita de embriões frescos e a gama de exigências em todas as suas etapas de condução.

O aprimoramento para a técnica de criopreservação tem sido objeto de estudo por diversos pesquisadores e desta forma, a vitrificação de embriões caprinos produzidos in vivo foi inicialmente descrita por Yusuwiati & Holtz (1990). Salles (2001), ressalta que o método de vitrificação é eficaz, rápido, e de fácil execução, pois envolve a exposição dos embriões à altas concentrações do crioprotetor, seguido da imersão direta em nitrogênio líquido, sem a necessidade de equipamentos caros para a congelação, como no método clássico. Salienta também, que esta técnica causa danos menores aos embriões por reduzir a formação de cristais de gelo intra e extra celulares. No Brasil, Ribeiro et al.(1989) descreveram pela primeira vez esta técnica em caprinos.Os autores constataram que a preservação morfológica dos 26 embriões vitrificados foi a seguinte:cinco(19,2%) apresentaram a zona pelúcida rompida; 12 (46,2%) apresentavam-se morfológicamente íntegros; sete(26,9%) tinham classificação regular e dois (7,7%) estavam degenerados.

Os melhores resultados de sobrevivência embrionária ainda são referenciados com a congelação lenta quando comparado à vitrificação, principalmente, frente a associação da sacarose às etapas de remoção da solução crioprotetora e a reidratação em placa (Salles et al., 1997a). Traldi et al. (1997) descreveram taxas de prenhez de 86,0 e 75,0%, diagnosticadas aos 43 dias após a inovulação de embriões criopreservados, respectivamente pelo método clássico e vitrificados. A remoção da solução crioprotetora, o cultivo dos embriões descongelados durante cinco minutos e a reidratação em placa, conferiu uma taxa de partição de 57,9% e média de 0,9 crias nascidas por receptora (Traldi et al., 1999). Simplício et al. (1999) obtiveram uma taxa de parto de 58,9%, após a inovulação de embriões vitrificados e descongelados e reidratados na própria palheta.

A produção in vitro de embriões caprinos com taxas de prenhez satisfatória é descrita por Traldi(2000). Um total de 169 embriões foram cultivados por 72 horas e ao atingirem o estágio de blastocisto foram vitrificados e 60% sobreviveram após a descongelação. A autora cita que embriões produzidos in vivo em estágio de mórula a blastocisto inicial suportam melhor a vitrificação, com taxas de 40% de sobrevivência, após a descongelação. A taxa de prenhez obtida foi 45%(9/20 receptoras) para embriões produzidos in vitro e 55%(21/38 receptoras) para embriões in vivo. Traldi et al. (2000) alcançaram taxas de prenhez de 77,8 e 57, 9%; taxas de nascimento de 77,8 a 55,2%; taxas de sobrevivência embrionária de 62,1 e 40,2%, respectivamente para inovulações feitas com embriões congelados pelo método lento e vitrificados em solução com 4,4M de etilenoglicol.

Na espécie ovina da raça Santa Inês são citadas taxas de prenhez de 27,3 e 46,7% , respectivamente para inovulações com embriões criopreservados pelo método clássico e vitrificados (Lopes et al., 2002).

BISSECÇÃO DE EMBRIÕES

Salles (2001b) obteve as primeiras crias de caprino no Brasil por meio da bipartição de embrião, sem uso de micromanipulador, com taxa de 16,7% de fertilidade ao parto. A técnica simples de micromanipulação de embrião, consistiu no uso de uma lâmina de barbear fixada a uma pipeta de Pasteur, onde nove pares de hemi-embriões foram transferidos para nove fêmeas receptoras. Destas duas levaram a prenhez a termo, dando origem a duas gêmeas idênticas e a outra a um macho.

A técnica da bissecção embrionária possibilita o aumento do número de produtos após a colheita, pois permite a transferência de um embrião em forma de dois hemi-embriões, gerando dois indivíduos idênticos. Esta técnica é especialmente importante no uso em pesquisa que necessita de animais gêmeos monozigóticos, solucionando a problemática da variação individual. Em contrapartida às vantagens que esta apresenta, deve ser considerada com bastante critério e idoneidade, pois preconiza a ruptura da zona pelúcida, e com isto aumenta o risco de transmissão de patógenos.

DIAGNÓSTICO DE PREENHEZ

Em programas de reprodução assistida como a transferência de embriões a fresco ou criopreservados impõe a realização do diagnóstico de prenhez precoce. A habilidade de confirmar e quantificar os fetos precocemente é uma prática imprescindível para a implementação na propriedade de critérios zootécnicos de manejo de fêmeas gestantes e fins comerciais de animais vazios. O ultra-som de tempo real, transcutâneo ou transretal e da ecografia, é considerado o método mais apropriado e seguro para o acompanhamento do desenvolvimento embrionário (Chalhoub, 2000).

Gonzalez (1996) detectou a prenhez com 100% de eficácia em ovelhas inseminadas com sêmen congelado, aos 40 dias após este procedimento. Através da evolução de equipamento de efeito Doppler e capacitação dos técnicos, é possível a efetivação da primeira detecção do embrião aos 21 - 22 dias após a fecundação (Salles et al., 1997b; Azevedo et al., 2001).

Considerações Finais

Muitos trabalhos têm sido desenvolvidos no Brasil com a finalidade de buscar o aprimoramento da transferência de embriões frescos ou congelados. Contudo, os melhores resultados na etapa final desta biotecnologia que é o número de crias nascidas tem correlação direta com a adoção dos seguintes critérios: 1. protocolo de superovulação utilizado; 2. nutrição das doadoras e receptoras; 3. manejo imposto às receptoras após as inovações; 4. sincronia do estágio fisiológico das receptoras e a idade dos embriões; 5. qualidade e número de corpos lúteos da receptora; 6. número de embriões transferidos; 7. transferência de embriões morfológicamente viáveis; 8. conduta de saúde preventiva nas doadoras e receptoras; 9. cuidados sanitários na manipulação dos embriões.

Referências

- ARMSTRONG, D.T.;EVANS, G.M. 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.;et al. Endocrine responses of goats after induction of superovulation with PMSG and FSH. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.67, n.2, p.395-401,1983a.
- ARMSTRONG, D.T.;PFITZNER,A.P.;WARNES,G.M. et al. **Superovulation treatments and embryo transfer in Angora goats. Journal of Reproduction and fertility**, v.67, n.2, p.403-410,1983b.
- ANDRIOLI - PINHEIRO, A.;SALLES,H.O.;MOURA SOBRINHO,P.A. et al. 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, RS: SBTE, p.193,1996b.
- ANDRIOLI - PINHEIRO, A.;SIMPLÍCIO,A.A.;VISINTIN,J.A.;et al.Superovulação em caprinos da raça Moxotó com FSH-p. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**,v.37,2000.
- ANDRIOLI, A. **Virus 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).
- ANDRIOLI, A.;GOUVEIA,A.M.G.;MOURA - SOBRINHO,P.A.; et al. Transferência de embriões em cabras naturalmente infectadas pelo Lentivírus caprino. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.24, n.5,2002.
- ARAÚJO FILHO, J.A.; SILVA,N.L. Impacto do pastoreio de ovinos e caprinos sobre recursos forrageiros de semi-árido. In: SEMINÁRIO NORDESTINO DE PECUÁRIA, 4. Fortaleza, CE,2000. **Anais...** Fortaleza: Federação da Agricultura do Estado do Ceará, 2000. p. 11-18.
- 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 MEDICINA VETERINÁRIA, 23, Recife - PE, 1994. **Anais...**Recife: 1994, p.104.
- AZEVEDO, H.C.;CHALHOUB,M.;FURST,R. et al. Momento da detecção ultra-sonográfica de algumas características do conceito ovino Santa Inês do 200 ao 460 dia de prenhez. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.25, n.2, p.147-148, 2001.
- BARIL, G.;BREBION,P.;CHESNÉ,P. **Manuel de formation pratique por la transplantation embryonnaire chez la brébis et la chèvre**. Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Étude FAO Production et Santé Animales,115,1993.183 p.
- BARIL, G. Possibilidades atuais da transferência de embriões em caprinos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL,11.,1995, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: CBRA,1995. p.109 -120.

- BARIL, B.;CASAMITJANA,P.;PERRIN,J. et al. Embryo production, freezing and transfer in Angora, Alpine and Saanen goats. **Zuchthygenology**, v.24, p.101 - 115,1989.
- BARIL, G. REMY,B.;VALLET,J.C.; et al. Effect of repeated use of progestagen - PMSG treatment for estrus control in dairy goats out breeding season. **Reproduction of Domestic Animals**, v.27, n.3, p.161 - 168,1992b.
- BARIL, G.; SAUMANDE,J. Hormonal treatments for control time of ovulation and fertility of goats. In: INTERNATIONALE CONFERENCE ON GOATS,7,2000. Nouzilly - France: **Proceedings...** Nouzily - France: IGA,v.1,p.400 - 405.
- BREBION, P.;BARIL,G.;COGNIE,Y. et al. Transfert d(embryons chez les ovins et les caprins. **Ann. Zootechnology**, v.41, p.331 -339,1992.
- BONDURANT, R.H.; SKIRROW,S.;ANDERSON,G.B. Nonsurgical collection of blastocysts from dairy goats. **Therigenology**,v.24, p.423,1984.
- CAVALCANTI, M.C.O.;GUERRA,M.M.P.;PEREIRA,R.J.T.A.; et al. Crescimento folicular de fêmeas caprinas leiteiras durante a estação seca. In: SEMINÁRIO NORDESTINO DE CAPRINO-OVINOCULTURA, 5., Recife - PE,1999. **Anais...** Recife: 1999, p. 285 - 286.
- CHALHOUB, M. Aspectos ultra-sonográficos e concentração de progesterona na gestação de ovelhas(Ovis aires) das raças Bergamácia e Ideal. Botucatu, 2000.129 p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina e Zootecnia, UNESP - Botucatu.
- CHEMINEAU, P.; PROCCUREUR ,R.; COGNIE,Y.; et al. Production, freezing and transfer of embryos from a bluetongue infected goat herd without bluetongue transmission. **Therigenology**,v.26, p.279 - 290, 1986.
- COLETO, Z.F.; LIMA,P.F.; OLIVEIRA,M.A.L.; et al. Superovulação de cabras mestiças com eCG e FSH. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.23, n.3,1999.
- COGNIE, Y.; BARIL,G.;POULIN,N. et al. Current status of embryo in sheep and goat. **Therigenology**, v.59, n.1, p.171 - 188,2003.
- CORTEEL, J.M.; LEBOEUF,B.; BARIL,G. Artificial breeding of adult goats and kids induced with hormones to ovulate outside the breeding season. **Small Ruminants Research**, v.1, p.19 - 35, 1988.
- DATTENA, M.; VESPIGNANI,S.;BRANCA,A. et al. Superovulation response and quality of embryos recovered from anestrus ewes after a single injection of porcine FSH dissolved in polyvinilpirrolidone. **Therigenology**, v.42, n.2, p.235 - 239, 1994.
- DIAS, F.E.F.; FERNANDEZ,D.R.P.; AGUIAR,G.V.; et al. Sincronização de estro em ovelhas deslanadas com diferentes doses de eCG(egvine Chorionic Gonadotrophin). In: SEMINÁRIO NORDESTINO DE CAPRINO-OVINOCULTURA,5,Recife - PE, 1999. **Anais...** Recife: 1999, p.320 - 321.
- DAWSON, M. Lentivírus disease of domesticated animals. **J. Comp. Pathology**, v.99, p.401 - 419,1988.

- EVANS, G.; MAXWELL, W.M.C. **Salamon(s) artificial insemination of sheep and goat.** Sydney:Butterwords,1987.194p.
- 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. **Proceedings...** 24th ANN MEET AM. ASSOC. VET. LAB. DIAG. 1981, p.407 - 426.
- FIENE, F.; BECKERS,J.P.;BUGGIN,M.;et al. Evaluation of cryopreservation techniques for goats embryos. **Reproduction Nutrition and Development**,v.35, n.4, p.367 - 373,1995.
- FIENI, F.; ROWE,J.;VAN HOOSEAR,K. et al. Presence of caprine arthritis - encephalitis virus(CAEV) infected cells in flushing media following oviductal - stage embryo collection. **Theriogenology**, v.57, n.2, p.931 - 940,2002.
- FIENE, F.; BECKERS,J.P.;BUGGIN,M. et al. Presence of caprine arthritis - encephalitis virus(CAEV) proviral DNA in genital tract tissues of superovulated dairy goat does. **Theriogenology**, v.59, n.7, p.1515 - 23,2003.
- FISHER, C.E.J.; MaC PHERSON,A. Effect of cobalt deficiency in the pregnant ewe on reproductive performance and lamb viability. **Research veterinary Science**, v.71, p.694 - 701,1991.
- FOSTER, J.D.; McKELVEY,W.A.C.; MYLINE,M.J.A.; et al. Studies on maternal transmission of scrapie in sheep by embryo transfer. **Veterinary Record**,v.130, p.341 - 343,1992.
- FOOTE, W.C.; CLARCK,W.; MACIULLIS, A.; et al. Prevention of Scrapie transmission in sheep using embryo transfer. **American Journal Veterinary Research**, v.54, p.1868, 1993.
- 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.
- GILBERT, D.E.; COONROD,S.A.;WHITING,C.J. Comparison of a progesterone intravaginal device (CIDRTM) with flunixin meglumine (FinadyneTM) for reducing the effects of corpora lutea regression in the goat. **Theriogenology**, v.33, n.1, p.230,1990.
- GONZALEZ, C.I.M. **Avaliação "in vitro" e "in vivo" de sêmen ovino(Ovis aires) congelado em palhetas e "pellets" com diferentes diluidores.** Botucatu,1996. 135 p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP - Botucatu.
- GONZALEZ, C.I.M.;SOARES,A.T.;CUNHA,M.G.G.; et al. Transferência de embriões criopreservados em caprinos das raças Savanna e Bôer no nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Reprodução Animal.** Belo Horizonte, v.25, n.1, p.351 - 352, 2001a.
- GONZALEZ, C.I.M.; SOARES,A.T.; CUNHA,M.G.G. **Incremento da produção de caprinos das raças British Alpine e Bôer por meio da utilização da transferência de embriões pela via transcervical.** In: Relatório Técnico Parcial - Projeto Financiado pelo BNB.p.1 - 10,2001b.
- GONZALEZ, C.I.M.; SOARES,A.T.; CUNHA,M.G.G. **Incremento da produção de caprinos das raças British Alpine e Bôer por meio da utilização da transferência de embriões pela via transcervical.** In: Relatório Técnico Final - Projeto Financiado pelo BNB.p.1 - 35,2001c.

- GONZALEZ, C.I.M.;SOARES,A.T.;CUNHA,M.G.G. et al. Protocolo para superovulação de ovelhas Santa Inês no semi-árido da Paraíba. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 2002, Recife,v.3, p.801 - 803.
- GONZALEZ, C.I.M.;SOARES,A.T.;CUNHA,M.G.G. et al. Sobrevivência embrionária em programas de transferência de embriões ovinos da raça Dorper oriundos da África do Sul.In: SINCORTE INTERNACIONAL DE OVINOS E CAPRINOS DE CORTE, 2. 2003.João Pessoa - PB. **Anais...**João Pessoa: 2003.
- GUÉRIN, B.; BUILLY,J.P.;HUMBLOT,P. et al. Effects de la contamination experimentale in vitro des embryos de souris et de brebis par campylobacter fetus. **Bull. Acad. Vet. De France**,v.61, p.63 - 78, 1988.
- GUÉRIN, B.;CHAFFAUX,S.; ALLIETA,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.
- GUIDO, S.I.; OLIVEIRA,M.A.L.;LIMA,P.F. et al. Sincronização do estro de cabras com progesterógenos e eCG. In: SEMINÁRIO NORDESTINO DE CAPRINO-OVINOCULTURA,5. Recife - PE,1999.**Anais...** Recife: 1999, p.318 - 319.
- HOLTZ,W.; NOWSHARI,M.; SOHNREY,B. Unilateral or bilateral transfer embryos in Boer gotas. In: INTERNATIONALE CONFERENCE ON GOATS,7,2000. Nouzilly - France: **Proceedings...** Nouzilly - France: IGA,v.1, p.494.
- IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). **Anuário Estatístico do Brasil**, Rio de Janeiro,v.58, n.1, p.1-1-8-28,1998.
- 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.
- LAMARA, A.; FIENE,F.; CHEBLOUNE,T.; et al. In vitro susceptibility of goat granulose cells to caprine arthritis encephalitis virus: preliminary results. **Theriogenology**,v.53, n.1, p.320, 2000.
- LAMARA, A.;FIENE,F.; MSELLIL-LAKHAL,L.; et al. Early embryonic cells from in vivo produced gota embryos transmit the caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV). **Theriogenology**,v.58, n.6, p.1153 - 1163, 2002.
- LE GAL, F.; BARRIL,G.; VALET,J.C. et al. In vivo and in vitro survival of gota embryos after freezing with ethylene glycol or glycerol. **Theriogenology**, v.40, n.4, p.771 -777,1993.
- LEITE, E.R.;VASCONCELOS,H.E.M.; SIMPLÍCIO,A.A. Desenvolvimento tecnológico para o agronegócio da ovinocaprinocultura. In: SEMINÁRIO NORDESTINO DE PECUÁRIA, 4.,2000. Fortaleza,CE. **Anais...**Fortaleza: Federação da Agricultura do Estado do Ceará, 2000.p.19 - 33.
- LIMA, P.F.; OLIVEIRA, M.A.L.; GUERRA, M.M.P. et al. 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, F.R.G. Uso de diferentes tratamentos hormonais para sincronização do estro em cabras nativas do Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.21, p.136 -137, 1997.

- LIMA, P.F.; OLIVEIRA,M.A.L.; GUIDO,S.I.; et al. Administração de hCG em cabras superovuladas com FSH. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**,v.23, n.3, p.373 - 375, 1999.
- LOPES Jr.,E.S.; CORDEIRO, M.F.; LIMA VERDE,J.B.; et al. Comparison of classic freezing and vitrification for embryo cryopreservation of Santa Ines sheep: Preliminary results. **Theriogenology**,v.57, n.1, p.465,2002.
- MACHADO, R.; AZEVEDO,H.C.; SALLES,H.O.;et al. Sincronização do estro em cabras pelo reaproveitamento de implantes de norgestomet previamente utilizados. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA,33,1996, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: SBTE,1996, p.413 - 415.
- McNELLY, A.S.; PICTON,H.M.; CAMPBELL, B.K. ; et al. Gonadotropic control of follicle growth in the ewe. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.23 (Supl.) p.177 -186,1991.
- MASSIP, A. Cryopreservation of embryos of farm animals. In: INTERNATIONALE CONFERENCE ON GOATS,7.,2000. Nouzilly - France: **Proceedings...** Nouzily - France: IGA,v.2, p.1030.
- MOOR, R.M.; KRUIP,Th. A.M.; GREEN,D.; Intraovarian control of folliculogenesis: limits to superovulation? **Theriogenology**, v.21, n.1, p.103 - 106, 1984.
- MOOR, R.M.; OSBORN,J.C.; CROSBY, I.M. Gonadotrophin induced abnormalities in sheep oocytes after superovulation. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.74, n.1, p.167 - 172, 1985.
- NOWSHARI, M.; HOLTZ,W. In vitro culture of goat morulae to blastocysts before freezing. **Theriogenology**, v .44, p.983 - 988, 1995.
- ODENSVIK, K.; CORT,N.;BASUS,S.;et al. Effect of flunixin meglumine on prostaglandin F2alfa synthesis and metabolism in the pig. **Journal Veterinary Pharmacology Therapeutic**, v.12, p.307 - 311, 1989.
- OLIVEIRA,V.S. **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, 1992. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da universidade de São Paulo.
- PENDLETON, R.J.; YOUNG,C.R.; RORIER,W.; et al. Follicle stimulating hormone versus pregnant mare serum gonadotropin for superovulation of dairy goats. **Small Ruminant Research**,v.8, n.3, p.217 - 224,1992.
- PEREIRA, R.J.T.A.; LIMA,P.F.; WISCHRAL,A.; et al. Colheita de embriões caprinos por via transcervical. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL,9.,1991,Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: CBRA,1991,v.2, p.314.
- PEREIRA, R.J.T.A.; SOHNREY,B.; HOLTZ,W. Nonsurgical embryo collection in goats treated with prostaglandin F2alfa and oxytocin. **Journal of Animal Science**, v.76, n.2, p.360 -363,1998.

- PINHEIRO, A.A.; SALLES,H.O.; SIMPLÍCIO, A.A. et al. Dose de hormônio folículo estimulante (FSH) suíno capaz de induzir superovulação em caprinos. In: RELATÓRIO TÉCNICO DO CENTRO NACIONAL DE CAPRINOS. Sobral - CE. P.116 - 117, 1996.
- PINHEIRO, J.H.T.; DIÓGENES, B.O.P.; MONTEIRO, A.W.V. et al. Fertilidade de fêmeas ovinas deslanadas inseminadas artificialmente quanto ao local de deposição do sêmen no aparelho reprodutor. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.25, n.3, p.336-338, 2001.
- POTES, J.A.C. **Ovulações controladas e superovulações em caprinos**. Vila Real, 1989. Tese (Doutorado) - Universidade de Trás-os -Montes e Alto Dourado.
- RABELO, M.C.; PEREIRA,R.J.T.A.; GUERRA,M.M.P.; et al. Administração de diferentes progestágenos em receptoras caprinas sem raça definida(SRD). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.23, n.3,1999, p.375-377.
- REMY,B.; BARIL,G.; VALLET,J.C.; et al. Are antibodies responsible for a decreased superovulatory response in goats wich have been treated repeatedly with porcine follicle stimulating hormone? **Theriogenology**, v.36, p.389 - 399, 1991.
- RIBEIRO,V.M.F.; OLIVEIRA, M.A.L.; LIMA,P.F.et al. A vitrificação de embriões caprinos. Revista do Centro de Ciências Rurais, v.19, p.20,1989.
- 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.
- RODRIGUES, J.L. Impacto futuro do emprego de novas biotecnologias na reprodução animal.In: SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOTECNOLOGIA DA REPRODUÇÃO DE ANIMAIS DOMÉSTICOS,2,1997. **Anais**.. Fortaleza, CE, p.89-101.
- RUSSEL, D. Increasing numbers of elite stock with embryo transfer in sheep and goats. Back to Genelink. **Advanced Breeding Services**, p.1 -6, 1998.
- SALLES, H.O.; ANDRIOLI-PINHEIRO,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,11.,1996.Canela, RS. **Anais**..Canela: SBTE, 1996a, p.215.
- SALLES, H.O.; SOARES,A.T.; SIMPLÍCIO,A.A.; et al. Resposta ovulatória de cabras da raça Saanen superovuladas nas épocas chuvosa e seca no nordeste do Brasil. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOTECNOLOGIA DA REPRODUÇÃO DE ANIMAIS DOMÉSTICOS, 2,1997, Fortaleza: SBTE,1997, p.120.
- SALLES, H.O.; ANDRIOLIA.; 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.298,1997a.

- SALLES, H.O.; CAVVALCANTE, T. V.C.; SOARES, A.T. et al. Preparo de receptoras caprinas para programa de transferência de embriões: Estro natural vs Estro sincronizado. . In: SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOTECNOLOGIA DA REPRODUÇÃO DE ANIMAIS DOMÉSTICOS, 2, 1997, Fortaleza: SBTE, 1997b, p.119.
- SALLES, H.O.; SOARES, A.T.; ANDRIOLLA,.; et al. Diferentes posologias de flumixin meglumine na prevenção da regressão prematura de corpos lúteos em cabras superovuladas. **Ciência Animal**, v.8, n.2, p. 69 - 74, 1998c.
- SALLES, H.O.; SANTOS, D.O.; SIMPLÍCIO, A.A. Superovulação em fêmeas caprinas pré-púberes e púberes da raça Anglo-Nubiana. **Ciência Animal**, v.10, Supl. 1, p.137-138, 2000.
- SALLES, H.O. **A vitrificação traz praticidade à congelação de embriões caprinos.** <http://www.ruralnet.com.br/artigos.2001>.
- SALLES, H.O. **Circuito fechado para a colheita de embriões em caprinos.** <http://www.ruralnet.com.br/artigos.2001a>.
- SALLES, H.O. **Bipartição de embriões caprinos, uma técnica de fácil execução.** <http://www.ruralnet.com.br/artigos.2001b>.
- SANTOS, D.O.; SIMPLÍCIO, A.A.; WANDERLEY, A.A.D.; et al. Estro e taxa de ovulação em cabras e ovelhas submetidas a diferentes protocolos de superovulação. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.23, n.3, p.185 - 187, 1999.
- SANTOS, D.O.; SIMPLÍCIO, A.A.; OLIVEIRA, S.M.P. Superovulação com FSH-p associado à polivinilpirrolidona em cabras mestiças de Anglo-Nubiana x Moxotó x Parda Alpina. **Ciência Animal**, v.10, Supl. 1, p.143, 2000a.
- SANTOS, D.O.; SIMPLÍCIO, A.A.; OLIVEIRA, S.M.P. Uso de FSH heterólogo associado ou não à polivinilpirrolidona para superovular ovelhas mestiças das raças deslanadas do nordeste do Brasil. **Ciência Animal**, v.10, Supl. 1, p.144, 2000b.
- SCARAMUZZI, R.J.; ADAMS, N.R.; BAIARD, D.T.; et al. A model for follicle selection and the determination of ovulation rate in the ewe. **Reproduction Fertility Developemnt**, v.5, p.459 - 478, 1993.
- SCUDAMORE, C.L.; ROBINSON, J.J.; AITKEN, R.P.; et al. Laparoscopy for intrauterine insemination and embryo recovery in superovulated ewes at a commercial embryo transfer unit. **Theriogenology**, v.35, p.329 - 337, 1991.
- SENN, B.J.; RICHARDSON, M.E. Seasonal effects on caprine response to synchronization of estrus and superovulatory treatment. **Theriogenology**, v.37, n.3, p.579 - 585, 1992.
- SILVA, J.C.; MELLO, A.; RESENDE, J.; et al. Superovulação de ovelhas Santa Inês através de uma única injeção subcutânea de FSH dissolvido em polivinilpirrolidona (resultados preliminares). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.25, n.3, p.341 - 343, 2001.
- SILVEIRA, K.B.X da; KOZICKI, L.E. Superovulação em ovelhas Suffolk durante o anestro sazonal com FSH e PMSG. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.5, n.3, p.339-341, 2001.

- SIMPLÍCIO, A.A.; SANTOS, D.O.; SOUZA, T.E.F. 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.
- SIMPLÍCIO, A.A.; SANTOS, D.O. Transferência de embriões em caprinos no Brasil - Estado atual e perspectivas. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE CAPRINOS E OVINOS DE CORTE, 1.2000, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa, 2000, p.169 - 182.
- 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. 64p. Dissertação (Mestrado em medicina Veterinária).
- SOARES, A.T.; SIMPLÍCIO, A.A.; ANDRIOLI-PINHEIRO, 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.; GONZALEZ, C.I.M.; SOUSA, W.H. Sincronização do estro e taxa de ovulação em receptoras de embriões caprinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.25, n.3, p.350 - 351, 2001.
- SOARES, A.T.; GONZALEZ, C.I.M.; SOUSA, W.H. et al. Sobrevivência embrionária em receptoras de embriões criopreservados na espécie caprina: Efeito da classificação embrionária. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 2002, Recife. **Anais...** Recife: SBZ, v.03, p.781 - 783.
- STEYN, M.C.; MORGENTHAU, J.C.; BARRY, D.M. Effect of embryo collection technique on subsequent fertility in a mutton merino ewes. **Theriogenology**, v.39, p.317, 1993.
- STEYN, J.J. Embryo transfer in sheep and goats in south Africa - present state and future perspectives. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE CAPRINOS E OVINOS DE CORTE, 1.2000, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa, 2000, p.183 - 188
- STRINGFELLOW, D.A.; SEIDEL, S.M. Manual da Sociedade Internacional da Transferência de Embriões. 3 ed. Illinois: **International Embryo Transfer Society**, 1999. Ed. SBTE, 180p.
- TAMANINI, C.; BONO, G.; AIROLI, F.; et al. Endocrine response induced in anestrous goats by the administration of different hormones after a fluorogestone acetate treatment. **Animal reproduction Science**, v.9, p.357 - 364, 1985.
- TERVIT, H.R.; GOULD, P.G.; MCKENZIE, R.D.; et al. Techniques and success of embryo transfers in Angora goats. **New Zealand of Veterinary Journal**, v.31, p.67 - 70, 1983.
- THIBIER, M. Identified and unidentified challenges for reproductive biotechnologies regarding infections diseases in animal and public health. **Theriogenology**, v.56, n.9, p.1465 - 1481, 2001.
- TORRES, S.; SEVELLEC, C. Repeated superovulation and surgical recovery of embryos in the ewe. **Reproduction and Nutrition Development**, v.27, p.858 - 863, 1987.

- TRALDI, A.S.; VISINTIN, J.A.; MIZUTA,K. et al. Utilização de anti-prostaglandínicos na prevenção da regressão prematura de corpos lúteos em caprinos In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL,11,1995, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: CBRA, 1995, p.244.
- TRALDI, A.S.; LEBOEUF,B.; POUGNARD, J.L. et al. Vitriificação: método alternativo para a criopreservação de embriões caprinos produzidos in vitro. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TRANSFERÊNCIA D EMBRIÕES, 25,1997. **Anais...** Foz do Iguaçu, Paraná: SBTE, p.312,1997.
- TRALDI, A.S.; LEBOEUF,B.;BARIL,G. et al. vitriificação: um bom método alternativo para a criopreservação de embriões caprinos e ovinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TRANSFERÊNCIA D EMBRIÕES, 14,1999.**Anais...** Campos do Jordão, São Paulo: SBTE, 1, p.301,1999.
- TRALDI, A.S.; LEBOEUF,B.; BARIL,G. et al. Goat embryo cryopreservation using slow freezing or vitrification. In: INTERNATIONALE CONFERENCE ON GOATS, 7., 2000. Nouzilly - France: Proceedings.. Nouzily - France: IGA,v.2, p.493.
- TRALDI, A.S. vitrification of goat in vivo and in vitro produced embryos. In: INTERNATIONALE CONFERENCE ON GOATS,7, 2000. Nouzilly - France: Proceedings... Nouzily - France: IGA,v.1,p.1031.
- YUSWIAITI, E.; HOLTZ,W. Successful transfer or vitrified goat embryos. **Theriogenology**, v.34, n.4, p.629 - 632, 1990.
- VALLET, J.C. BARIL,G. Effect of laparoscopic intra-uterine insemination in superovulated dairy goats. In: COLLOQUE SCIENTIFIQUE, ASSOCIATION SCIENTIFIQUE EUROPÉENNE DE TRANSFERT EMBRYONNAIRE,6,1990,Lyon, France, Proceedings... Lyon, France: AETE, v.1, p.1888,1990.
- WALKER, S.K.; SMITH,D.H.; SEAMARK,R.F. Timing of multiple ovulations in the ewe after treatment with FSH or PMSG with and without GnRH. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.77, n.1, p.135 - 142, 1986.
- VASCONCELOS,V.R.; VIEIRA,L.S. **A evolução da caprino-ovinocultura brasileira.** <http://www.ruralnet.com.br/artigos> 2001.
- WAGHORN,G.C.; SMITH,J.C.; ULYATT,M.J. Effect of protein and energy intake on digestion and nitrogen metabolism in wethers and on ovulation in ewes. **Animal Production**, v.51, p.291 - 300, 1990.
- 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,J.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.