

TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EM BOVINOS

Camila Pasa¹

RESUMO: A Transferência de embriões tem como princípio a multiplicação, de forma acelerada, da progênie (descendentes), de fêmeas consideradas superiores, dentro de cada espécie. Atualmente é a técnica mais acessível e de melhor aproveitamento de uma doadora, multiplicando seu material genético. Para tal, as doadoras serão submetidas a tratamentos com hormônios, que atuarão sobre os ovários causando múltiplas ovulações (superovulação). Esses óvulos se fertilizados após as inseminações, serão coletados e avaliados uma semana após. Os embriões considerados viáveis, serão transferidos para outras fêmeas chamadas receptoras (transferência a fresco) ou congelados para posterior aproveitamento. A transferência (inovulação) a fresco ou pós-descongelamento consiste na deposição do embrião no útero de receptoras previamente selecionadas. Em uma mesma doadora podem ser feitas várias coletas durante um ano, o que permite que uma doadora produza muitos bezerros por ano, sendo que, em condições normais, produziria apenas um.

Palavras-chave: Superovulação, inovulação, embrião

EMBRYO TRANSFER IN CATTLE

ABSTRACT: Embryo transfer has the multiplication principle, quickly, the progeny (offspring), females outweigh within each species. Today is the technique more accessible and better use of a donor, multiplying its genetic material. To this end, the donor will undergo hormone therapy, which will act on the ovaries causing multiple ovulation (superovulation). These eggs were fertilized after insemination, will be collected and evaluated one week. The embryos were considered, will be transferred to other females receiving calls (transfer fresh) or frozen for later use. Transfer (embryo transfer) fresh or thawed is the deposition of the embryo in the uterus of recipient previously selected. In the same donor can be made several collections a year, which allows a donor to produce calves for many years, and under normal conditions, would produce only one.

Keywords: Superovulation, embryo transfer, embryo

¹Mestranda em Ciências Animais. Produção e Nutrição de Ruminantes. FAMEV - UFMT

INTRODUÇÃO

A Transferência de Embriões (TE) é uma biotecnologia que permite recolher embriões de uma fêmea doadora e transferi-los para fêmeas receptoras com a finalidade de completarem o período de gestação. Apesar dos procedimentos sofisticados necessários para sua implementação, a transferência de embriões é uma biotécnica mundialmente difundida (GONÇALVES et al., 2001). Sua importância básica para a produção animal consiste na possibilidade de uma fêmea produzir um número de descendente muito superior ao que seria possível obter fisiologicamente durante sua vida reprodutiva (TANEJA et al., 2000)

Colaborando com os conceitos, Reichenbach et al. (2001) afirmam que além de equacionar problemas relativos a questões de ordem genética e sanitária, contribui para ampliar os conhecimentos de fisiologia, patologia e endocrinologia decorrente da relação entre embrião, órgãos genitais internos e sistema nervoso central.

A TE fornece base técnica para viabilizar a implementação de biotécnicas afins, como a produção de clones e de animais transgênicos. Para o melhoramento zootécnico, ela é um importante instrumento porque acelera e confere maior precisão no processo de seleção animal. Além disso, a TE pode ser empregada para obter descendentes de animais com distúrbios reprodutivos adquiridos sem caracterização genética, impedindo, em alguns casos, o descarte precoce de fêmeas geneticamente superiores (REICHENBACH et al., 2001).

Os métodos são variáveis quando utilizados para o sistema reprodutivo. O objetivo é duplicar as atuais taxas médias de 1 a 3 gestações/coleta e aumentar a frequência de coletas para 6 a 8 por ano. Nesse intuito, a transferência de embrião transpõe o conceito de que o processo de seleção genética e características fenotípicas permanecessem restritos ao macho, pois esta biotécnica possibilita a fêmea produzir um maior número de descendentes do que seria possível fisiologicamente, além de proporcionar através da congelamento de embriões o transporte internacional de germoplasma sem o risco de transmissão de doenças, conservação de raças em perigo de extinção, dentre outros aspectos (REICHENBACH et al., 2001).

Para que ocorra sucesso na efetividade da TE deve-se observar o estro das doadoras e receptoras quanto à regularidade e intensidade, em relação à sincronização, para uma excelente produtividade do embrião (TANEJA et al., 2000).

TRATAMENTO HORMONAL DAS DOADORAS E RECEPTORAS CONTROLE E SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO DE DOADORAS E RECEPTORAS

Nos últimos dez anos foram desenvolvidos vários métodos para controlar farmacologicamente o início da onda de crescimento folicular em bovinos. Para tanto, preconiza-se a administração de agonistas do GnRH, LH ou mesmo métodos mecânicos como a aspiração folicular. Entretanto, existem propostas para controlar a onda folicular, através da associação de hormônios como o estrogênio e a progesterona, os quais serão discutidos a seguir (ANDRADE et al., 2002).

Os tratamentos tradicionais de superovulação consistem na detecção de cio das doadoras, seja este natural ou induzido pelo uso de PGF2a, com o começo da superestimulação entre os dias 8 e 12 do ciclo estral. A aplicação de FSH é feita duas vezes ao dia, durante quatro dias, em doses decrescentes. No entanto, recentes estudos avaliaram especificamente o estado folicular dos animais quando os tratamentos superovulatórios foram iniciados. Isto somente foi possível através do monitoramento dos ovários por ultra-sonografia. Através do levantamento destes dados, foi possível identificar que entre os dias 8 e 12 do ciclo estral, ou seja, 7 e 11 dias após ovulação, aproximadamente, começa uma nova onda folicular de vacas que possuem de 2 a 3 ondas foliculares por ciclo. Denomina-se superovulação o aumento do número fisiológico de

ovulações, próprio de cada espécie, provocado através da administração exógena de gonadotrofinas. Nos bovinos se considera que houve resposta ao tratamento quando se conseguem mais de 2 ovulações (RUMPF, 2005).

Donaldson (1984) citado por Gonçalves et al. (2001) observou em um estudo com 1263 doadoras, demonstrou que 68% das fêmeas que foram superestimuladas produziram embriões transferíveis e nas outras 32% foi observado: 7% não responderam; 7% não produziram nenhuma estrutura; 17% não produziram embriões transferíveis e 1% apresentaram cio antes da aplicação de PGF2a.

A indução da ovulação deve ser realizada para o tratamento de anestro sincronização do ciclo estral para a inseminação artificial em tempo fixo (IATF ou TAI). Entretanto, todas as espécies em anestro da lactação, particularmente durante longos períodos de subnutrição, animais pós-púberes no início da estação de monta podem requerer terapia hormonal (FERRAZ, 1996).

Segundo Ferraz (1996), o hormônio mais usado atualmente para tratamentos superovulatórios em bovinos é o FSH, comercialmente representados no Brasil pelo Pluset®1 e Folltropin®-V2. Como resultado de uma retroalimentação positiva da secreção de estrógeno pelo folículo em crescimento ocorre um pico natural de hormônio luteinizante (LH), portanto pode ser apropriado estimular um pico de LH pela administração de: Hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH): Injeção única e atua induzindo a liberação de LH e FSH da hipófise anterior; recrutamento e seleção do novo folículo estimulante ou; Induzir um pico artificial do tipo LH pela administração de gonadotrofina coriônica humana (hCG): Injeção única no qual mimetiza o LH e induz ovulação (FERRAZ, 1996).

A sincronização de cio deve ser realizada tanto na doadora quanto na receptora para que o embrião se implante na receptora em torno do mesmo período que foi retirado da doadora (pode haver flexibilidade de mais ou menos um dia de sincronia entre doadora e receptora). Por exemplo, embriões que forem coletados 7 dias após o estro ou indução da ovulação nas doadoras podem ser transferidos em receptoras que estejam entre os dias 6 e 8 do ciclo estral. Esta regra aplica-se tanto para embriões transferidos a fresco, quanto para embriões congelados. As vacas que já serviram como receptoras de embrião e estão aumentando o produto desta TE podem ser receptoras novamente, contando que estejam em boas condições corporais e no mínimo com 50 a 60 dias pós o parto (SIEDEL, 1981).

SUPEROVULAÇÃO DAS DOADORAS

A superovulação (SOV) é um dos elementos chaves na biotecnologia de embriões. O sucesso de uma equipe está diretamente relacionado ao número e a qualidade dos embriões obtidos na coleta de doadoras. (RUMPF et al., 2005).

Para melhor sincronização utilizou-se tratamento com progestágenos impregnados em dispositivos intravaginal (CIDR), (Figura 1). Este permanece no animal por 7 a 12 dias, sendo que os sintomas de estro ocorrem por volta de 48 a 96 horas após retirada do implante e para melhor sincronização administra-se PGF2 no momento da retirada do dispositivo. Assim, no dia “5”: Introduzir o CIDR[®] (dispositivo de silicone em forma de T) por 7 dias. Dia “12”: Remover o CIDR[®] (dispositivo em silicone em forma de T), aplicar prostagândina e FSH. O tratamento superovulatório deve ser realizado no começo de uma onda folicular, antes da seleção do folículo dominante, para se obter a melhor resposta possível e desejável (GONÇALVES et al., 2001).

No caso de receptoras que após a primeira transferência retornaram ao estro podem ser novamente aproveitadas para posteriores transferências. Já aquelas que não conceberam depois de três tentativas consecutivas devem ser descartadas e na medida do possível substituídas do rebanho de fêmeas receptoras. As doadoras são inseminadas 2 a 3 vezes conforme os sintomas aparentes de estro, sendo a primeira inseminação realizada após o surgimento dos primeiros sinais de estro e as demais em intervalos de, aproximadamente, 12 horas. As fêmeas que não

mostrarem sinais de estro devem ser inseminadas, de preferência, 48 e 60 horas da aplicação de PGF2 ou 36 e 48 horas após a retirada do dispositivo intravaginal. Esses animais devem ser inseminados mesmo sem a aparência do estro, uma vez que algumas doadoras, principalmente no rebanho de leite, superovulem normalmente sem apresentar sinais de estro (conhecido como cio silencioso). Portanto, quando inseminados no período certo, pode-se obter bons resultados na colheita de embriões (MUNAR, 2001).

A vantagem de utilizar dispositivos intravaginais ou implantes auriculares para a sincronização do estro de doadoras, consiste na possibilidade do tratamento superovulatório ter início independentemente do estágio do ciclo estral (ANDRADE et al., 2002).

Na fisiologia propriamente dita, sabe-se que o hormônio folículo estimulante (FSH), produzido nas células basófilas do lobo anterior da hipófise, é responsável pela estimulação nos ovários do crescimento folicular. Na SOV se busca a estimulação de um maior número de folículos possíveis de uma mesma onda de crescimento folicular, garantindo, pela aplicação de hormônios, não só o desenvolvimento como também a ovulação de tais folículos. Portanto, é importante que a SOV seja iniciada antes de estabelecido a dominância folicular. Independente da gonodotrofina utilizada, o tratamento de SOV deve ser feito na fase lútea do ciclo estral, preferencialmente entre os dias 8 e 12 do ciclo, considerando-se dia zero o dia do ciclo (GONÇALVES et al., 2001).

A dosagem de FSH-P varia conforme o produto (laboratório), a categoria, estado fisiológico, escore corporal, a raça e a individualidade da doadora, sendo que para raças zebuínas utiliza-se uma dose menor e para as raças européias utiliza-se uma dose maior. É fundamental observar todos esses parâmetros no momento de definir a dose superovulatória a ser utilizada. Portanto, não existe uma dosagem pré-estabelecida (RUMPF et al., 2005).

Vantagens da utilização do FSH-P em SOV (ANDRADE et al., 2002): Meia vida curta (12h); Baixo risco de reações anafiláticas; Apresentam melhores resultados em estruturas viáveis por coleta; facilidade de aquisição.

Desvantagens da utilização do FSH-P em SOB (ANDRADE et al., 2002): Necessidade de aplicação a cada 12 horas, durante o período de SOV; Alto custo. Superovulação (FSH).

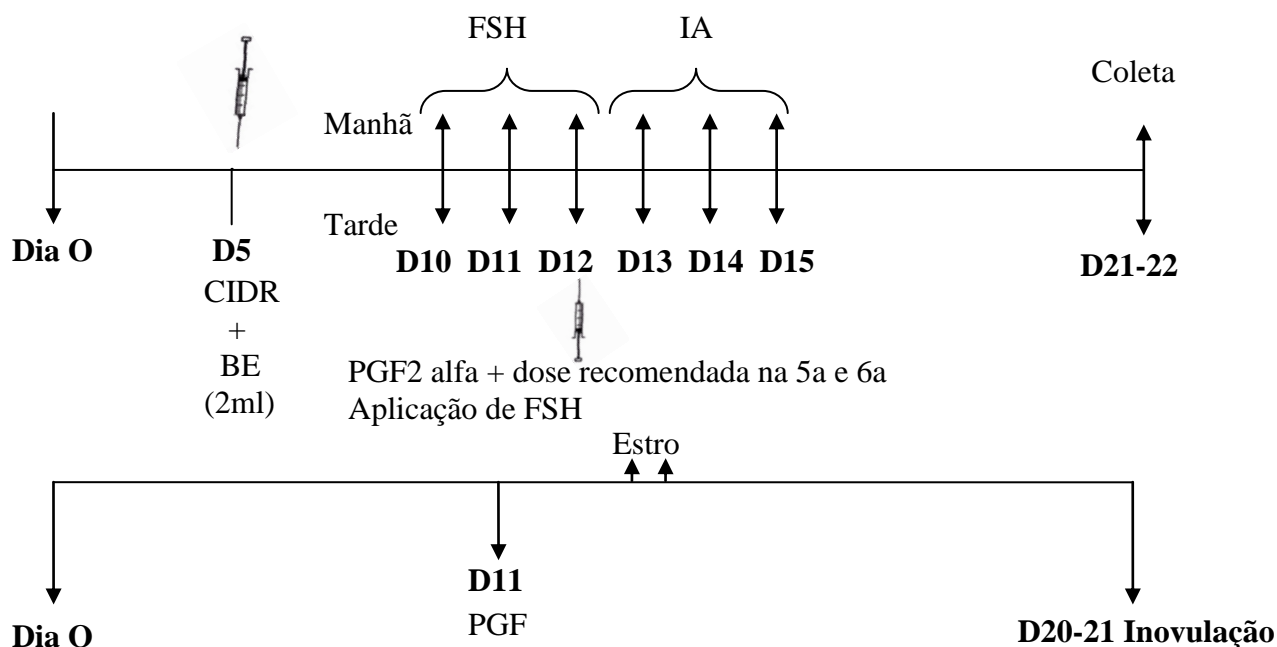


FIGURA 1: Protocolo de Superovulação em vacas de corte com administração de prostaglandina e utilização de CIDR na receptora para sincronizar o tempo do ciclo estral da doadora.

COLHEITA DE EMBRIÕES

PREPARAÇÃO DO MATERIAL PARA A COLHEITA

Antes de se iniciar a procura dos embriões, deve ser preparado o ambiente e todo o material necessário para o procedimento de manipulação de embriões. Para o preparo do ambiente, caso o procedimento não seja realizado em um laboratório de T.E., deve-se reservar um espaço mais restrito, por exemplo, uma sala, um lugar limpo, seco, com boa iluminação e ventilação e que não venha levantar poeira, evitando o uso de ventiladores ou circuladores de ar, como também a possível circulação de insetos, animais e pessoas, locais próximos a estábulos e salas de alimentação, como medidas de controle sanitário. A temperatura ideal para manter e manipular os embriões antes da congelação e transferência é entre 20 e 30 graus Celsius, sendo importante evitar a exposição dos embriões a temperaturas extremas. A bancada de manipulação deve ser bem limpa, e se possível desinfetá-la com álcool 70%, caso contrário, usar um forro de tecido autoclavado ou papel sobre a bancada (RUMPF et al., 2005).

MATERIAL

Segundo Gonçalves et al. (2001) utiliza-se: Vidraria bem limpa e esterelizada; Meios de manipulação de boa qualidade e esteril; Usar filtros, com poros de 0,22µ, de boa procedência; Seringas e agulhas esterilizadas ou novas; Placas de Petri 100x20 mm e 35x10 mm (usar produto estéril e de boa procedência); Álcool 70%; Lamparina com álcool, Isqueiro; Pipetas de manipulação ou bulbos; Papel toalha; Lanterna para uma eventual necessidade; Caneta para escrita permanente (tipo retro projetor ponta fina); Fichas e livros de anotações; Material para destinação dos embriões (congelamento ou inovulação).

PREPARAÇÃO DA DOADORA

Faz-se palpação trans-retal ou com ultra-som para detectar a presença ou não de estruturas no ovário. Em caso de resposta positiva, aplica-se anestesia epidural caudal baixa com 5 a 7 ml de a lidocaína a 2% (Laboratório Bravet Ltda-Brasil).

COLHEITA

A colheita de embriões é realizada preferencialmente, entre o sexto e oitavo dia após a primeira inseminação das doadoras (DEMÉTRIO, 2003). Nesse período o embrião encontra-se flutuando, num filme líquido no lúmen da ponta dos cornos uterinos. Isso permite sua captação através da técnica de lavagem dos cornos uterinos (DEMÉTRIO, 2003).

A colheita, com o animal posicionado em estação, é realizada pelo método transcervical com o auxílio de um cateter de borracha (Figura 05) ou de plástico flexível contendo um balão inflável na sua extremidade distal. Inicialmente, esse cateter, contendo um mandril de metal em seu lúmen para torná-lo rígido, é introduzido e posicionado em um dos cornos uterinos. Posteriormente, o balão é inflado com 10 a 20 ml de ar e em seguida é retirado o mandril do interior do cateter, sendo oportuno salientar que todo manuseio do cateter no interior do útero é auxiliado por palpação retal. O tempo médio necessário para a colheita de embriões é de 20 minutos, sendo igualmente importante conter a doadora. Estando o cateter corretamente posicionado, os embriões podem ser obtidos sem que haja risco de refluxo do meio de cultivo durante o procedimento de colheita de embriões em ambos os cornos uterinos (DEMÉTRIO, 2003)..

Para uma colheita, são utilizados, normalmente, cerca de 500 ml de DPBS modificado (Phosphate Buffered Saline, Dulbecco & Vogt, 1954). Ao referido PBS são adicionados 250.000 UI de penicilina e 0,10g de estreptomicina em 1,5 litro, além de ser suplementado com 10% de soro fetal bovino previamente inativado a 56 graus Celsius por 30 minutos. A lavagem uterina é realizado pelo meio aberto de colheita e deve ser efetuada em frações de 40 a 50ml de PBS com auxílio de uma seringa de plástico acoplado diretamente ao cateter de colheita posicionado no corno uterino. Quando obtidas, essas frações são depositadas em um recipiente siliconizado, geralmente um cilindro de vidro graduado com capacidade para 500ml (DEMÉTRIO, 2003).

Com o método ora em uso para colheita por via transcervical, usa-se um grande número de lavagens por corno uterino, objetivando uma maior taxa de recuperação de embriões. No entanto, o procedimento leva a um grande número de placas a ser analisado, por doadora submetida a colheita, o que demanda tempo. Vale lembrar que, um longo período de exposição dos embriões às condições de ambiente pode repercutir, negativamente, na viabilidade deles e, em conseqüência, comprometer os resultados da inovulação, a fresco ou após a congelção. Outros desafios a serem suplantados na técnica diz respeito a maior possibilidade de contaminação do lavado uterino com partículas em suspensão no ar, com pêlos, fezes e urina do próprio animal, com suor dos envolvidos no ato da colheita, etc., transformando a colheita em uma fonte potencial de contaminação dos embriões recuperados, havendo ainda, a possibilidade de perda do material colhido após movimentação brusca da doadora. Diante do exposto, através de um circuito fechado, buscou-se tornar a colheita por via transcervical uma técnica prática, asséptica e segura para a doadora, com a menor possibilidade de contaminação ou de perda dos embriões. circuito fechado propicia uma maior pressão no interior do corno uterino, o que favorece a recuperação do meio de lavagem intra-uterina infundido (MUNAR et al., 2001). Até o momento da busca e seleção dos embriões sob estereomicroscópio, o líquido colhido deve ser mantido à temperatura ambiente, devendo-se evitar oscilações de temperatura que podem influenciar negativamente sobre a vitalidade dos embriões (GONÇALVES et al., 2001).

EXAME E AVALIAÇÃO DOS EMBRIÕES

Os embriões coletados são transportados do filtro de colheita para placas de Petri com diâmetro de 12cm. Com o auxílio de um estereoscópio se faz a primeira busca na placa com suaves movimentos circulares, onde toda e qualquer estrutura encontrada é retirada com a ajuda de uma seringa tipo de insulina e ponteira estéril para uma placa menor (60x35), contendo gotas do meio de manutenção BSA (DEMÉTRIO, 2003).

Ao localizar os embriões, estes devem ser colocados em outra placa com solução de coleta contendo soro fetal bovino (SFB) ou albumina sérica bovina (BSA). Essas soluções devem ser de boa qualidade e esterelizadas. Os embriões encontrados e colocados na placa com meio fresco devem ser lavados novamente em outros banhos (GOODHAND et al., 2005).

Segundo a Sociedade Brasileira de Transferência de Embriões (S.B.T.E.) classificou os embriões em uma divisão de sete categorias. A evolução morfológica dos embriões é um dos passos mais importantes para o sucesso do programa de transferência de embriões. Determinar a transferência de um embrião exclusivamente através de suas qualidades morfológicas é, no entanto, um equívoco. Outros fatores como o valor do embrião em particular e também a disponibilidade de receptoras é de importância na decisão. É conveniente acentuar que uma rigorosa seleção dos embriões por meio de sua evolução morfológica aumenta a taxa de gestações por transferência, e ao mesmo tempo, diminui a taxa de prenhes por cada doadora. A idade do embrião é estabelecida a partir do dia do estro (dia 0). O dia 1 corresponde a ovulação. São utilizados cinco estágios de desenvolvimento: estágio 1 mórula: aglomerado celular em cuja superfície blastômeros individuais podem ser distinguidos; estágio 2 mórula compacta: blastômeros individuais não podem ser distinguidos na superfície do embrião; estágio 3 blastocisto inicial: uma pequena cavidade, a blastocela, está visível e a massa celular interna

começa a se formar; estágio 4 blastocisto: o embrião ocupa a maior parte dentro da zona pelúcida, a massa celular interna começa a tornar-se mais distinta mas o diâmetro global do embrião, incluindo a zona pelúcida, permanece inalterado; e estágio 5 blastocisto expandido: o diâmetro embrionário está aumentado e a espessura da zona pelúcida pode ser reduzida para aproximadamente 1/3 da espessura original; estágio 6 Blastocisto em eclosão: O embrião está iniciando o processo de saída da zona pelúcida; estágio 7 Blastocisto eclodido. O embrião está completamente livre da zona pelúcida; é ainda nítida a presença da fase de blastocele (GONÇALVES et al. 2001)

Observa-se predominância de estágios embrionários avançados (blastocisto, blastocisto expandido e blastocisto eclodido) que representaram 80% do total de estruturas, contra 20% de mórulas e blastocistos iniciais. O grande predomínio de estágios avançados de desenvolvimento no sétimo dia após o estro parece ser uma característica marcante que diferencia zebuínos e taurinos. Em um amplo estudo realizado por (GONÇALVES et al. 2001), procurou-se identificar os fatores que afetam o estágio de desenvolvimento de embriões taurinos recuperados no sétimo dia após o estro. De 1495 embriões viáveis estudados, 84,5% encontravam-se em estágios iniciais de desenvolvimento (5,8% de mórulas, 56,1% de mórulas compactas e 22,5% de blastocistos iniciais) e o restante (15,5%) em estágios mais avançados (10,3% de blastocistos e 5,2% de blastocistos expandidos). Comparando-se os resultados de (GONÇALVES et al. 2001) com os do presente estudo, observa-se que no sétimo dia após o estro houve predominância de estágios iniciais em taurinos, e de estágios mais avançados em zebuínos (DONALDSON, 1984).

Ressalta-se que a maior parte dos embriões (95% ou 128/135) foi classificada nos graus I e II (excelente e bom, respectivamente). A média de embriões viáveis obtidas por coleta e a porcentagem de embriões excelentes e bons podem atestar a eficiência dos procedimentos utilizados, dentre eles o do protocolo de superovulação (GONÇALVES, 2001).

Os embriões avaliados como excelentes, bons e regulares são passíveis de transferência. Os resultados, expressos em percentual de gestações, variam entre 45 e 60%, e normalmente não diferem para os embriões classificados como excelentes e bons. Na indicação para a congelação e micromanipulação, somente os embriões excelente e bom são utilizáveis (RUMPF, 2005).

Na avaliação morfológica de um embrião considera-se com relação as estruturas e qualidades os seguintes critérios: Forma esférica; Simetria dos blastômeros; Aparência clara e nítida dos blastômeros; Tonalidade escura e uniforme; Uniformidade da membrana celular; Proporcionalidade entre o embrião e o espaço perivitelínico; Integridade da zona pelúcida; Ausência de vacúolo no embrião e fragmentos celulares no espaço perivitelínico; Ausência de fragmentos celulares aderidos à zona pelúcida; Compactação dos blastômeros entre si (GOODHAND et al., 2005).

TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES (INOVULAÇÃO)

Os embriões encontrados na placa de Petri, avaliados morfológicamente e que foram designados viáveis podem ser congelados ou inovulados em receptoras. Demetrio (2003) citado por Costa (2005), argumenta que a inovulação consiste em depositar o embrião no terço médio-final do corpo uterino ipsilateral ao corpo lúteo.

Segundo Costa (2005) as receptoras aptas eram contidas em um tronco, mantidas em estação e anestesiadas com 5ml de lidocaína via epidural, essa anestesia era feita em todo o lote de receptoras que entrasse nesse tronco. O reto é esvaziado e a vulva limpa com papel toalha.

Para transferência a fresco, o embrião deve sofrer três banhos consecutivos com meio de manutenção (PBS + 0,4% de BSA12) para lavagem. Após os banhos o embrião é envasado em palhetas de 0,25 ml. A palheta é carregada em primeiro lugar com o meio de manutenção, deixa um espaço com ar e logo se carrega o embrião com meio de manutenção. Posteriormente, a segunda coluna de ar e a última novamente com o meio. A palheta que contém o embrião é

colocada em uma bainha estéril e em seguida no inovulador. Para manter a bainha do inovulador livre de contaminações, deve ser usada a camisinha sanitária (COSTA, 2005).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A transferência de embriões tem como base o princípio da multiplicação, de forma acelerada da progênie (descendentes), de fêmeas (doadoras) consideradas superiores, dentro de cada criatório. Atualmente é a técnica mais acessível e de melhor aproveitamento de uma doadora, multiplicando seu material genético.

Procedimentos de avaliação cuidadosa do material genético a ser utilizado e técnicas para evitar o aumento das taxas de endogamia são essenciais para a decisão a respeito de qual material genético deve ser disseminado na população e em que quantidade esse material pode ser utilizado. Transferindo embriões de vacas não avaliadas geneticamente poderemos estar aumentando a frequência de genes menos desejáveis e utilizando esses animais intensamente, pode-se aumentar os riscos de crescentes níveis de endogamia na população, prejudicando toda e qualquer eventual vantagem de incremento nas taxas de progresso genético.

O problema de contaminação uterina é maior na inovulação do que na inseminação artificial porque no momento da inovulação o útero está mais susceptível devido aos altos níveis séricos de progesterona, o que não ocorre no momento da inseminação, quando o predomínio é do estradiol. Em inovulações mais demoradas e com maior dificuldade de manipulação o risco de contaminação uterina é maior, o que pode ter contribuído para reduzir a taxa de gestação, devido a proliferação de agentes infecciosos que prejudicam o desenvolvimento embrionário.

A incorporação de técnicas que visam o controle da dinâmica folicular, como já discutida, poderá reduzir a variabilidade das respostas aos tratamentos em vacas que apresentam diferentes estágios do ciclo estral. A sincronização de cio através do controle do ciclo estral, proporciona possibilidades interessantes para IA em tempo-fixado e elimina o trabalho da detecção de cio. Os estudos ainda não forneceram um método adequado de minimizar a variabilidade das respostas ovarianas à superestimulação, mas os protocolos envolvendo sincronização da emergência folicular, podem fornecer tratamentos rápidos e eliminando a necessidade da detecção de cio em programas de TE, sem que os resultados biológicos sejam comprometidos.

A classificação de embriões deve ser realizada criteriosamente para garantir boas taxas de concepção, e com isso aumentar a eficiência reprodutiva, melhorando e multiplicando a sua genética dentro do rebanho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, J.C.O., OLIVEIRA, M.A.L, LIMA, P.F. et al. Use steroid hormone treatments prior to superovulation in Nelore donors. **Animal Reproduction Science**, v. 69, n.1-2, p.9-14, 2002.

COSTA, P. V. F da. **Transferência de embriões usando a IATF**. Centro Regional Universitário, Espírito Santo do Pinhal. São Paulo. P. 84-99, 2005.

DEMÉTRIO, D. G. B. **Colheita e transferência de embriões bovinos**. São Paulo, SP.2003. p. 22-23. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, Campus de Botucatu. 2003.

DONALDSON, L. Comparison of Cloprostenol and Dinoprost Tromethamine for the control of estrus in bovine embryo transfer. **Theriogenology**. v. 21, p. 11-16, 1984.

- FERRAZ, J.B.S. Cruzamento e avaliação genética. In: **CURSO SOBRE AVALIAÇÃO GENÉTICA DE BOVINOS DE CORTE EM GOIÁS**. Dept. de Zootecnia da UFG., 1996.
- GONÇALVES, P. B. F.; FIGUEIREDO, J. R de; FREITAS, V. J de F. **Biotechnicas aplicadas à reprodução animal**. REICHENBACH, Horst, Dieter, et al., São Paulo: Varela, Cap. 8. p.127 – 162. 2001.
- GOODHAND, K.L.; WATT, R.G.; STAINES, M.E. In vivo oocyte recovery and in vitro embryo production from bovine donors aspirated at different frequencies or following FSH treatment. **Theriogenology** . Gainesville, v.51.p.951-961.1999.
- HAFEZ, E. S. E. **Reprodução Animal**. 7 ed. São Paulo:Manole. p. 409 – 433. 2004.
- MUNAR, C. J.; VALDEZ, A. M.; BEN, G.; MUJICA, I. F. **Selección de receptoras y sincronización de celos en bovinos**. La Plata, RA.: cristal. p. 2-9. 2001.
- REICHENBACH, H. D.; DE OLIVEIRA. M.A. L.; LIMA, P.F.; SANTOS FILHO, A. S.; ANDRADE, J. C. O. Transferência e criopreservação de embriões bovinos. In: GONÇALVES et al. **Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal**. São Paulo: Varela. p.127 – 177. 2001.
- RUMPF, Rodolfo et al. **Manual de transferência e micromanipulação de embriões nas espécies bovina e eqüina**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, p. 41-67, 2005.
- SIEDEL Jr, G.E. Superovulation and embryo transfer in cattle. **Science**, v.211, p.351-358, 1981.
- TANEJA, M.; BOLS, P.E.J.; VELDE, V. Development competence of juvenile calf oocytes in vitro and in vivo: influence of donor animal, variation and repeated gonadotropin stimulation. **Biology Reproduction, Champaing**. v. 31. pag. 67-73, 2000.