

DESAFIOS E PERSPECTIVAS NA PRODUÇÃO *IN VIVO* DE EMBRIÕES DE PEQUENOS RUMINANTES NO NORDESTE DO BRASIL

(Challenges and perspectives in the in vivo production of small ruminant embryos in northeast of Brazil)

Ney Rômulo de Oliveira PAULA^{1*}; Leticia Soares de Araújo TEIXEIRA²; Kenney de Paiva PORFIRIO³

¹Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí (UFPI). Rua Dirce Oliveira, 3397. Ininga, Teresina/PI. CEP: 64.048-550; ²Programa de Residência Multiprofissional (UFPI); ³Campus Profa. Cinobelina Elvas (UFPI). *E-mail: neyromulo@ufpi.edu.br

RESUMO

Em decorrência da necessidade de aproveitamento de matrizes e reprodutores de alto mérito genético biotecnologias reprodutivas como a Multipla Ovulação e Transferência de Embriões (MOTE) vêm sendo cada vez mais utilizada, garantindo assim a produtividade mesmo diante de obstáculos. Nos últimos anos essa atividade vem apresentando um acentuado desenvolvimento e aprimoramento, principalmente em caprinos e ovinos que se constituem espécies de extrema importância para a Região Nordeste do Brasil, por serem uma das culturas mais vantajosas quando comparado com as demais culturas como a pecuária e por se tratar de uma atividade sustentável do ponto de vista ambiental, sociocultural e econômico. Dentre os principais fatores que ainda afetam o desempenho e sucesso dos programas de Transferência de Embriões (TE) em pequenos ruminantes podemos destacar a seleção de fêmeas doadoras e receptoras, variabilidade de resposta aos protocolos de superovulação, regressão prematura de corpo lúteo (CL), necessidade de etapas cirúrgicas como a laparotomia e laparoscopia e baixa disponibilidade de mão de obra especializada. Nesse sentido, este artigo aborda as principais etapas da produção *in vivo* de embriões em pequenos ruminantes bem como os desafios e as perspectivas de cada etapa a serem enfrentadas na Região Nordeste do Brasil.

Palavras-chave: Caprinos, ovinos, biotecnologias reprodutivas, embriões.

ABSTRACT

As a result of the need to use matrices and breeders with high genetic merit, reproductive biotechnologies such as Multiple Ovulation and Embryo Transfer (MOTE) have been increasingly used, thus guaranteeing productivity even in the face of obstacles. In recent years, this activity has shown a marked development and improvement, especially in goats and sheep, which are extremely important species for the Northeast Region of Brazil, as they are one of the most advantageous crops for this region when compared to other crops such as livestock and because it is a sustainable activity from an environmental, socio-cultural and economic point of view. Among the main factors that still affect the performance and success of Embryo Transfer (ET) programs in small ruminants we can highlight the selection of donor and recipient females, variability in response to superovulation protocols, premature corpus luteum (CL) regression, need for surgical steps such as laparotomy and laparoscopy and low availability of specialized labor. In this sense, this article addresses the main stages of *in vivo* embryo production in small ruminants as well as the challenges and perspectives of each stage to be faced in the Northeast Region of Brazil.

Key words: Goat, sheep, reproductive biotechnologies, embryos.

INTRODUÇÃO

A Múltipla Ovulação e Transferência de Embriões (MOTE) é uma biotecnologia reprodutiva que vêm apresentando crescimento contínuo nos últimos anos, esta ferramenta constitui um importante meio para o desenvolvimento do desempenho produtivo das criações,

mediante a geração de sucessores de genética superior, a partir de indivíduos de alto mérito genético (FERRAZ *et al.*, 2016). Em pequenos ruminantes essa biotecnologia reprodutiva se encontra em constante desenvolvimento. Dessa forma, os programas de transferência de embriões associados a sincronização de estro e ovulação juntamente com a inseminação artificial aumentam de forma expressiva o ganho genético anual e intervalo de gerações (LUO *et al.*, 2019).

Para realização dessa biotécnica, além de mão de obra qualificada é necessário seguir algumas etapas que são vitais para o sucesso da técnica, como seleção adequada de doadoras e receptoras, superovulação de doadoras, inseminação, recuperação de estruturas embrionárias e transferência de embriões para as receptoras (PANYABORIBAN *et al.*, 2018; KHUNMANEE *et al.*, 2019).

DESENVOLVIMENTO

Seleção de doadoras e receptoras

Uma das principais etapas para se obter sucesso e consequente retorno econômico em programas de transferência de embriões é a seleção de doadoras e receptoras (PINTO *et al.*, 2017; DANTAS *et al.*, 2018), sendo essa uma etapa essencial e primordial em um programa de TE. A escolha desses animais deve ser criteriosa, estes devem passar por toda uma avaliação clínica e exame específico do sistema reprodutor (PHILLIPS e JAHNKE, 2016).

Comumente fêmeas utilizadas para formação de plantéis de receptoras são identificadas, preliminarmente, levando-se em conta a comprovação do estado de ciclicidade ovariana, onde são consideradas cíclicas as fêmeas que apresentem, durante o exame ginecológico, a presença de corpo lúteo em um dos dois ovários ou um bom crescimento folicular. A partir dessa avaliação, as fêmeas selecionadas são direcionadas para os tratamentos hormonais que objetivam a sincronização de estro com as doadoras (BARIONI *et al.*, 2007). Em pequenos ruminantes a avaliação do CL para seleção de receptoras é realizada por laparoscopia, permitindo avaliar o tamanho, o número e a coloração. Contudo, por ser uma técnica invasiva que requer cuidados cirúrgicos, ela vem caindo em desuso e sendo substituída pela ultrassonografia (PINTO *et al.*, 2017).

A escolha de receptoras do próprio rebanho, pode ser capaz de reduzir os custos de produção, sendo assim, bastante estimulada. Além disso, o número de animais a ser utilizado deve ser bem programado e uma vez que a esse número de animais não atenda às necessidades, podem ser incorporados processos de criopreservação das estruturas embrionárias recuperadas (PHILLIPS e JAHNKE, 2016; DANTAS *et al.*, 2018).

No tocante a seleção de doadoras, o intervalo entre gerações influencia significativamente no ganho genético dos rebanhos. Dessa forma, quanto mais jovem for a doadora melhor é o impacto e resultados nos programas de melhoramento genético (BARRUSELI *et al.*, 2016). A escolha de doadoras é um ponto crucial para o sucesso da técnica, pois a seleção de fêmeas superiores garantirá a multiplicação desse potencial genético, conferindo uma rápida disseminação de animais superiores, além de maior precisão no processo de seleção desses animais (FONSECA, 2005).

Durante o processo de seleção de doadoras e receptoras para programas de TE é extremamente necessário compreender os mecanismos de interação entre a nutrição e reprodução (VALENTIN *et al.*, 2019). Durante a nutrição, o animal só direcionara nutrientes para a sua atividade reprodutiva quando todas as prioridades anteriores forem atendidas (SANT *et al.*, 2018). Dessa forma, animais que apresentam baixo escore de condição corporal apresentam mudanças no perfil hormonal, afetando assim diretamente a função reprodutiva, principalmente em programas de TE (VALENTIM *et al.*, 2019).

Superovulação de doadoras e sincronização das recetoras

O processo pelo qual é recrutado e selecionado um número exacerbado de folículos, maior do que o número geneticamente estabelecido durante um ciclo sexual natural até chegarem à ovulação é denominado superovulação. São sugeridos como determinantes na resposta ovariana os fatores exógenos, relacionados especificamente com o tipo e a forma de administração das gonadotrofinas e os fatores endógenos, relacionados com o "*status*" ovariano do animal no início da superovulação que interfere no número de folículos responsivos às gonadotrofinas (RODRIGUEZ *et al.*, 2019).

O principal objetivos de tratamentos superovulatório é suprir a deficiência da concentração do FSH antes que o folículo dominante promova a redução da concentração endógena dessa gonadotrofina (NETO *et al.*, 2012).

O tratamento hormonal utilizando FSH pode atuar em diversos processos reprodutivos, incluindo funções ovarianas (KRAISOON *et al.*, 2017), sendo essa a primeira escolha para a superestimulação ovariana. Esse hormônio tem sido amplamente empregado no controle reprodutivo para estimular o desenvolvimento de múltiplos folículos e promover a superovulação em várias espécies de mamíferos (FRY, 2016). usualmente é administrado duas doses diárias com intervalos de 8h a 12h durante 3 a 4 dias iniciando dois ou tres dias antes da remoção do implante contendo progesterona (BARTLEWSKI *et al.*, 2016; KRAISOON *et al.*, 2017).

As aplicações desse hormônio são realizadas em dosagens decrescentes (20%; 20%; 15%; 15%, 10%; 10%; 5%; 5%). As doses utilizadas nos protocolos variam de 100 a 256mg (OLIVEIRA *et al.*, 2014). As doses utilizadas são consideradas altas, podendo estar associadas à variabilidade na resposta ovulatória, ocorrência de processos anovulatórios e de regressão precoce de CL, resultando em um menor número de embriões produzidos (PINTO *et al.*, 2017).

Outro hormônio utilizado para a superovulação de pequenos ruminantes é a gonadotrofina coriônica equina (eCG) que possui atividade foliculo-estimulante. Doses de 750 a 2.000 UI são usualmente recomendadas. A administração de 1.000 UI eCG (S.C.) em função de um estro base (dia 0) provou ter resultados semelhantes quando efetuada a vários períodos (dia 7, 9 ou 11) e sucedida por administração de análogo de prostaglandina dois dias depois (FONSECA, 2005).

Independente dos hormônios utilizados no tratamento superovulatório ou do protocolo de administração e método de sincronização das ovulações, as limitações responsáveis pela variabilidade das respostas estão, possivelmente, relacionadas à dinâmica folicular, equilíbrio

estímulo-inibição que determinam a taxa de ovulação em cada espécie e aos mecanismos intraovarianos que controlam o crescimento folicular (LÓPEZ e SEBASTIÁN, 2006).

Visando obter melhores índices reprodutivos a procura pela utilização de protocolos hormonais vêm sendo cada vez maior (BALARO *et al.*, 2016). O método hormonal mais difundido para a sincronização do estro e ovulação é baseado na utilização de progestágenos, prostaglandinas ou seus análogos e gonadotrofina coriônica equina (MACHADO e SIMPLÍCIO, 2001).

A sincronização de estro em pequenos ruminantes pode ser obtida realizando o prolongamento da fase lútea com a utilização de progestágenos em associação a outros hormônios como a Gonadotrofina coriônica equina, ou pela redução da fase lútea, utilizando agentes luteolíticos como a prostaglandina e seus análogos (FALET *et al.*, 2011).

Inseminação artificial

A utilização da inseminação artificial (IA), associada à seleção de animais geneticamente superiores em suas características produtivas, reprodutivas e morfológicas, pode acelerar o melhoramento genético de diversas espécies, por meio da possibilidade de se intensificar o manejo com reprodutores. A IA é utilizada nos processos de transferência de embriões, permitindo que ocorra uma rápida multiplicação de material genético de animais de genética superior. Ademais, esta biotécnica reprodutiva também viabiliza a utilização de sêmen de animais que já morreram, de reprodutores com subfertilidade adquirida ou que estejam em diferentes regiões do país (FERANTI *et al.*, 2013).

Em pequenos ruminantes os métodos de inseminação artificial variam de acordo com o local de deposição do sêmen no aparelho reprodutor da fêmea. Assim, as técnicas de inseminação existentes são: vaginal, intracervical (superficial e profunda), intra-uterina (transcervical e laparoscópica). A IA vaginal é uma técnica simples, onde o sêmen é depositado por meio de um aplicador na vagina da ovelha o mais próximo possível da cérvix, tem como desvantagem a predileção por sêmen fresco ou resfriado e concentração espermática elevada, variando entre 200 e 400 milhões de espermatozoides por ovelha (VALENTIM *et al.*, 2016). Para Fonseca *et al.* (2014), a taxa de gestação pode variar de 40% a 65% em programas de transferência de embriões em pequenos ruminantes.

Já a IA intracervical, objetiva o depósito do sêmen no interior, parte superior, média ou profunda da cérvix. É uma técnica bastante utilizada por ser rápida, consideravelmente fácil e de pouca manipulação uma limitação considerável nessa técnica baseia-se na utilização de sêmen congelado. Na comparação de sêmen fresco e congelado nessa mesma técnica utilizando fêmeas Santa Inês sincronizadas, Cardoso *et al.* (2009), observaram uma taxa de gestação de 58,8% contra 14,7%, respectivamente.

Outro método de inseminação artificial (IA), utilizado mundialmente, sendo este considerado o mais eficiente do mercado é a técnica de IA por laparoscopia, por meio da qual permite a deposição do sêmen diretamente no útero da fêmea, não apresentando como obstáculo a barreira cervical, principalmente nas ovelhas, as quais apresentam o cervix tortuoso e muito difícil de ser ultrapassado com aplicadores universais rígidos (PAULA e CARDOSO, 2018). Segundo Meirelles *et al.* (2017), a técnica descrita é uma opção eficiente

e avançada de reprodução que permite contornar as barreiras físicas do trato reprodutivo em pequenos ruminantes.

Colheita de embriões: técnicas

A colheita de embriões em pequenos ruminantes pode ser realizada por técnicas cirúrgicas como a laparotomia e laparoscopia que são realizadas sob anestesia geral e por técnicas não cirúrgicas por via transcervical (FONSECA *et al.*, 2016).

A laparotomia consiste em uma técnica que o animal deve ser anestesiado para posteriormente realizar uma incisão na linha alba e exteriorizar os cornos uterinos. A lavagem e recuperação pode ser realizada com a administração de 4mL de tampão salino fosfatado (PBS), na temperatura de 37 °C em cada corno uterino, assim como no sentido da bifurcação uterina em direção a junção útero-tubárica, local onde encontra-se um cateter para a colheita do lavado (PAULA *et al.*, 2008).

Já a laparoscopia é utilizada na reprodução animal com a finalidade de recuperar e transferir embriões, realizar inseminação artificial e para fins de diagnósticos por meio da avaliação de ovários, útero, bem como, observar o desenvolvimento do corpo lúteo (LUO *et al.*, 2019).

A colheita de embriões por laparoscopia consiste na realização de três punções na cavidade abdominal próximo ao úbere, sendo a primeira e a segunda 2cm equidistantes da linha média e 5 cm do úbere e a terceira sobre a linha média e a 8m do úbere. Pela primeira e segunda incisão, são introduzidos o endoscópio (lado esquerdo) e a pinça de endoscopia (lado direito) para visualização e manuseio do sistema genital, com avaliação da atividade ovariana. Seguidamente realiza-se a colheita dos embriões dá seguinte forma: o útero deve ser pinçado próximo à bifurcação dos cornos uterinos e perfurado com trocater (3 mm de diâmetro) pela terceira incisão. Após a retirada do trocater, introduz a sonda de colheita de embriões de três vias, inflando o balão com 3mL de ar e o útero é liberado, pinçando-se, em seguida, a porção cranial do corno uterino para evitar a perda da solução pela trompa. Pode ser administrado 20 mL de PBS em cada corno uterino pela segunda via da sonda, posteriormente o líquido é recuperado em recipiente graduado sob vácuo pela terceira via, repetindo-se o processo no corno oposto e sutura apenas a pele com pontos separados em U, empregando-se fio de algodão (PAULA *et al.*, 2008).

Inovulação ou transferência de embriões propriamente dita

A inovulação consiste na deposição do embrião no útero ipsilateral ao ovário portador de, pelo menos, um corpo lúteo funcional da fêmea receptora, podendo ser pelo método cirúrgico (laparotomia), semicirúrgico (laparoscopia) ou por via transcervical (PAULA *et al.*, 2008; PINTO *et al.*, 2017).

Na laparotomia, a receptora é anestesiada e faz-se uma incisão na linha alba para que os cornos uterinos sejam expostos. Posteriormente são puncionados para a introdução de um cateter (*tom-cat* ou *Unopette*) e é feita a deposição dos embriões no útero com cuidado para não lesionar a mucosa uterina, os embriões são depositados próximo à junção útero-tubárica, (FREITAS e SIMPLÍCIO, 2002).

Na inovulação por laparoscopia, a receptora é anestesiada e colocada em decúbito dorsal em maca ou mesa própria. Realiza-se uma punção no abdômen para colocar a cânula do laparoscópio por onde se produz um pneumoperitônio facilitando a visualização do trato genital na cavidade abdominal, a segunda cânula é colocada no lado oposto da primeira, para que fosse introduzida uma pinça atraumática permitindo a manipulação do ovário e avaliação da resposta ovulatória dessa fêmea. Em uma terceira incisão, é introduzida uma agulha ou a sonda (*tom-cat*) para perfurar o corno uterino e introduzir o embrião próximo à junção útero-tubárica (PAULA *et al.*, 2008).

PRINCIPAIS DESAFIOS

Dentre os principais desafios durante a seleção de doadoras e receptoras que podem influenciar o sucesso da técnica de transferência de embriões podemos destacar o escore de condição corporal e dieta, pois influenciam diretamente nos processos reprodutivos, como atividades endócrinas e principalmente funções ovarianas, interferindo na taxa de fertilidade desses animais (GOMES *et al.*, 2014; BASS *et al.*, 2017; KRAISOON *et al.*, 2017; VALENTIM *et al.*, 2019). Na Região Nordeste, esse é um fator de extrema importância, pois de acordo com Campos *et al.* (2017), os animais dessa região apresentam baixos índices reprodutivos devido a escassez de alimentos na região, e, em decorrência disso o processo de seleção de fêmeas doadoras e receptoras para entrar em programas de transferência de embriões devem ser bem rigorosos.

Outro desafio que sempre deve ser levado em consideração é a grande variabilidade de resposta nos processos de superovulação (LÓPEZ e SEBASTIÁN, 2006), além da necessidade de várias aplicações, geralmente em doses decrescentes do hormônio FSH e a não padronização das doses que variam em torno de 100 a 256mg (OLIVEIRA *et al.*, 2014).

Doses muito altas, podem estar associadas à variabilidade na resposta ovulatória, ocorrência de processos anovulatórios e de regressão precoce de CL, resultando em um menor número de embriões produzidos (PINTO *et al.*, 2017). Em contra-partida, de acordo com Figueira *et al.* (2020) doses baixas como 100mg são insuficientes para promover a resposta superovulatória em ovelhas. A padronização da dose é um ponto crucial na aplicação dessa biotécnica. Nesse sentido, Bartlewski *et al.* (2009) relatam que, para contornar esses fatores extrínsecos relacionados a doses e obter sucesso no processo de superovulação é recomendado a administração de doses que variam de 150 a 300mg.

Um dos maiores gargalos da TE atualmente é a regressão prematura de corpo lúteo, onde uma das alternativas para seu controle tem sido a utilização de fármacos antiprostaglandínicos, uma vez que a $PGF_{2\alpha}$ é responsável pelo processo de luteólise. Dentro desses fármacos o mais utilizado para tentar solucionar esse problema é o flunixin meglumine, que é um antiinflamatório não esteroidal (AINE) capaz de reduzir a biossíntese de prostaglandina por meio da inibição da enzima ciclo-oxigenase (COX) 1. Sendo sua eficácia apresentada quando utilizada no período pré luteolítico onde o hormônio dominante é a progesterona, evitando assim a pulsação precoce de $PGF_{2\alpha}$ (CHRISTENSEN *et al.*, 2014).

A técnica de inseminação também pode ser um fator determinante em programas de TE, principalmente quando se utiliza sêmen criopreservado. A utilização desse tipo de sêmen

em programas de inseminação artificial vem se tornando uma ferramenta indispensável para o melhoramento genético na indústria de pequenos ruminantes (OSUAGWUH e PALOMO, 2017). Em um estudo realizado por Casali *et al.* (2017), constatou-se que quando foi usado sêmen congelado depositado via intra-uterina por laparoscopia, obteve-se taxas de gestação superiores (56,9%) quando comparada aos métodos cervical (42,3%) e transcervical (53,1%). Dessa forma, o uso da inseminação laparoscópica é estimulado, pois além de obter taxas elevadas de gestação permite utilizar concentrações mais baixas de espermatozoides por dose inseminante o que torna a técnica mais vantajosa (SATHE, 2018).

A colheita de embriões em pequenos ruminantes pode ser realizada por técnicas cirúrgicas (laparotomia e laparoscopia) e por técnicas não cirúrgicas por via transcervical (FONSECA *et al.*, 2016). A realização de colheitas cirúrgicas por mais que apresentem vantagens é uma técnica que sempre deve ser levada em consideração para aplicação em reprodução assistida como a TE, pois podem levar a formação de aderências no trato reprodutivo (BRUNO GALARRARA *et al.*, 2014; PINTO *et al.*, 2020). Em virtude disso, esforços estão sendo feitos para que a técnica não cirúrgica de colheitas de embriões em pequenos ruminantes sejam cada vez mais empregada nessa biotécnica (FONSECA *et al.*, 2019). A espécie ovina possui uma grande limitação na colheita não cirúrgica, pois o acesso ao lúmen uterino pela via cervical é desafiador (HALBERT *et al.*, 1990). Nesse sentido, diversos trabalhos vêm sendo desenvolvidos para promover a dilatação cervical utilizando hormônios exógenos como a ocitocina, prostagladina e benzoato de estradiol e apresentando resultados satisfatórios (FONSECA *et al.*, 2015; LEITE *et al.*, 2018).

Regressão prematura de corpo lúteo: entrave ou fantasia?

O corpo lúteo é uma glândula endócrina transitória no ovário que se diferencia da parede folicular após a ovulação. É vital para a reprodução em mamíferos, pois produz o hormônio esteróide (progesterona), que atua no trato reprodutivo para permitir o implante de embriões e proporcionar um ambiente materno que sustenta a prenhez (BASS *et al.*, 2017).

Em pequenos ruminantes o desempenho reprodutivo é afetado drasticamente em decorrência da regressão precoce de corpo lúteo que ocorre de forma frequente nessas espécies (RODRIGUEZ *et al.*, 2015). Sendo essa uma das principais causas da redução da eficiência reprodutiva em programas de MOTE (BERGSTEIN GALAN *et al.*, 2020). As causas de regressão ainda não são bem conhecidas, no entanto, é uma das principais razões de subfertilidade em pequenos ruminantes (CHRISTENSEN *et al.*, 2014).

O mecanismo de regressão é um processo em que a $PGF_{2\alpha}$ (hormônio derivado do ácido araquidônico) produzida pelas células endometriais, alcança a circulação venosa uterina e passa para o sistema arterial ovariano através de um mecanismo de contracorrente (TREVISOL *et al.*, 2015; MO *et al.*, 2018).

Tendo em vista o grande prejuízo que a regressão causa nas taxas de concepção uma das alternativas para seu controle tem sido a utilização de drogas antiprostaglandínicas, pois a prostaglandina é a responsável pela luteólise e os mecanismos descritos anteriormente desencadeiam sua liberação precoce ou de modo exacerbado. O fármaco flunixin meglumine é um anti-inflamatório não esteroide (AINE) capaz de reduzir a biossíntese da prostaglandina por meio da inibição da enzima ciclo-oxigenase (COX) 1. A eficácia dessa aplicação

apresenta-se maior quando utilizada no período pré-luteolítico onde o hormônio dominante é a P₄, evitando assim a pulsação precoce de PGF_{2α} (CHRISTENSEN *et al.*, 2014).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A produção *in vivo* de embriões de pequenos ruminantes apesar de apresentar diversas vantagens e ser uma biotécnica promissora ainda apresenta alguns desafios que devem ser contornados, principalmente para a realidade da região Nordeste do Brasil. No entanto, é extremamente necessário fazer sempre uma análise criteriosa do rebanho visando contornar os possíveis desafios e auxiliar para a maximização do sucesso dessa biotécnica reprodutiva.

A utilização da múltipla ovulação e transferências de embriões pode acelerar exponencialmente o ganho genético das futuras gerações, sendo uma ferramenta extremamente útil em programas de melhoramento genético de rebanhos caprinos e ovinos.

Ademais, boas práticas agropecuárias aplicadas de modo profissional em rebanhos caprinos e ovinos, levando em consideração a adequação dos manejos geral, nutricional, sanitário e reprodutivo devem ser levadas em consideração a fim de que o mínimo de variáveis possíveis possa interferir no processo de produção de embriões em pequenos ruminantes.

REFERÊNCIAS

- BALARO, M.F.; FONSECA, J.F.; BARBOSA, T.G.; SOUZA-FABJAN, J.M.G.; FIGUEIRA, L.M.; TEIXEIRA, T.A. Potential role for GnRH in the synchronization of follicular emergence before the superovulatory Day 0 protocol. *Domestic and Animal Endocrinology*, v.54, n.1, p.10-14, 2016.
- BARIONI, L.G.; TRAVASSOS BELTRAME, R.; QUIRINO, C.R.; RANKEL FERNANDES, D. Modelos determinista e estocástico em programas de transferência de embriões em bovinos. *Archivos Latino americanos de Producción Animal*, v.15, n.3, p.111-117, 2007.
- BASS, C.S.; REDMER, D.A.; KAMINSKI, S.L.; GRAZUL-BILSKA, A.T. Luteal function during the estrous cycle in arginine-treated ewes fed different planes of nutrition. *Reproduction*, v.153, n.3, p.253–265, 2017.
- BARTLEWSKI, P.M.; FUERST, K.J.; ALEXANDER, B.D.; KING, W.A. Systemic concentrations of endogenous and exogenous FSH in anoestrous ewes superstimulated with Folltropin-V. *Reproduction in Domestic Animals*, v.44, n.2, p.353–358, 2009.
- BARTLEWSKI, P.M.; ALEXANDER, B.D.; KING, W.A. Ovarian and endocrine determinants of superovulatory responses in anestrous ewes. *Small Ruminant Research*, v.75, n.2/3, p.210-216, 2016.

BERGSTEIN-GALAN, T.G.; WEISS, R.R.; KOZICKI, L.E.; BORTOLETO, C.T.; LARA, N.S.S.; ASCHENBRENNER, G.A. Effect of flunixin meglumine and hcg at commercial programs for multiple ovulation and embryo transfer (MOET) in sheep. *Archives of Veterinary Science*, v.25, n.1, p.56-66, 2020.

CAMPOS, F.S.; GOIS, G.C.; VICENTE, S.L. Alternativa de forragem para caprinos e ovinos criados no semiárido. *Nutri Time*, v.14, n.2, p.5004-5013, 2017.

CHRISTENSEN, A.C.M.; HARESIGN, W.; KHALID, M. Progesterone exposure of seasonally anoestrous ewes alters the expression of angiogenic growth factors in preovulatory follicles. *Theriogenology*, v.81, n.2, p.358-367, 2014.

DANTAS, K.S.A.; CAMPELLO, C.C.; DANTAS, R.A.A.; NUNES, J.F. Seleção de receptoras em um programa de transferência de embriões (PIVE) em bovinos no nordeste do Brasil. *Ciência Animal*, v.28, n.1, p.03-16, 2018.

FATET, A.; PELLICER-RUBIO, M.T.; LEBOEUF, B. Reproductive cycle of goats. *Animal Reproduction Science*, v.124, n.3/4, p.211-219, 2011.

FERANTI, J.P.S. Viabilidade de duas novas técnicas para inseminação intrauterina laparoscópica em ovinos. *Arquivo Brasileiro de Medicina veterinária e Zootecnia*, v.65, n.3, p.687-693, 2013.

FERRAZ, P.A.; BURNLEY, C.; KARANJA, J. VIEIRA-NETO, A.; SANTOS J.E.P.; CHEBEL, R.C.; GALVÃO, K.N. Factors affecting the success of a large embryo transfer program in Holstein cattle in a commercial herd in the southeast region of the United States. *Theriogenology*, v.86, n.7, p.1834-1841, 2016.

FIGUEIRA, L.M.; ALVES, N.G.A.; MAIA, A.L.R.S.; SOUZA-FABJAN, J.M.G.; BATISTA, R.I.T.P.; ARRAIS, A.M.; LIMA, R.R.; OLIVEIRA, M.E.F.; FONSECA, J.F. In vivo embryo production and recovery in lacuane ewes after imposing a superovulation treatment regimen is related to pFSH dose. *Animal Reproduction Science*, v.223, n.12, p.232-237, 2020.

FONSECA, J.F. Estratégias para o controle do ciclo estral e superovulação em ovinos e caprinos, Goiânia, GO, 2005. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 2005, Anais... Goiania, v.16, p.67-74, 2005.

FONSECA, J.F.; ESTEVES, L.V.; ZAMBRINI, F.N.; BRANDÃO, F.Z.; PEIXOTO, M.G.C.D.; VERNEQUE, R.S.; SIQUEIRA, L.G.B.; VIANA, J.H.M. Viable offspring after successful non-surgical embryo transfer in goats. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. v.66, n.2, p.613-616, 2014.

FONSECA, J.F.; SOUZA-FABJAN, J.M.G.; OLIVEIRA, M.E.F.; LEITE, C.R.; NASCIMENTO-PENIDO, P.M.P.; BRANDÃO, F.Z.; LEHLOENYA, K.C. Nonsurgical embryo recovery and transfer in sheep and goats. *Theriogenology*. v.86, n.1, p.144-151, 2016.

FONSECA, J.F.; ZAMBRINI, F.N.; GUIMARÃES, J.D; SILVA, M.R.; OLIVEIRA, M.E.F.; BRANDÃO, F.Z. Combined treatment with estradiol benzoate, d - cloprostenol and oxytocin

permits cervical dilation and non - surgical embryo recovery in ewes. *Reproduction in Domestic Animals*, v.54, n.1, p.118-125, 2019.

FREITAS, V.J.F.; SIMPLÍCIO, A. A. Transferência de embriões em caprinos. In: GONÇALVES, P.B.D.; FIGUEIREDO, J.R.; FREITAS, V.J.F. *Biotécnicas aplicadas à reprodução animal*. 1ª ed., São Paulo: Varela, p.179-194, 2002.

FRY, R. The use of long-acting FSH_MAP5 in sheep superovulation programs. *Reproduction and Fertility Device*, v.29, n.1, p.208-209, 2016.

HALBERT, G.W.; DOBSON, H.; WALTON, J.S.; BUCKRELL, B.C. The structure of the cervical canal of the ewe. *Theriogenology*, v.33, n.5, p.977-992, 1990.

KRAISOON, A.; REDMER, D.A.; BASS, C.S.; NAVANUKRAW, C.; DORSAM, S.T.; VALKOV, V.; REYAZ, A.; GRAZUL-BILSKA, A.T. Corpora lutea in superovulated ewes fed different planes of nutrition. *Domestic Animal Endocrinology*, v.62, n.1, p.16–23, 2017.

LEITE, C.R.; FONSECA, J.F.; FERNANDES, D.A.M.; SOUZA-FABJAN, J.M.G.; ASCOLI, F.O.; BRANDÃO, F.Z. Cervical dilation for non-surgical uterus access in Santa Inês ewes. *Arquivo Brasileiro De Medicina Veterinária E Zootecnia*, v.70, n.6, p.1671-1679, 2018.

LÓPEZ SEBASTIÁN, A.; GONZÁLEZ DE BULNES, A.; SANTIAGO MORENO, J. Control y manejo reproductivo en pequeños rumiantes. In: curso internacional de reproducción animal, 2006, Madrid. *Compendio de conferencias*, Madrid: Universidad Politécnica de Madrid, p.43-52, 2006.

LUO, J.; WANG, W.; SUN, S. Research advances in reproduction for dairy goats. *Journal Animal Science*, v.32, n.8, p.1284-1295, 2019.

MACHADO, R.; SIMPLÍCIO, A.A. Avaliação de programas hormonais para a indução e sincronização do estro em caprinos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.36, n.1, p.171-178, 2001.

MEIRELLES, J.R.S.; CASTRO, M.L.; BERGSTEIN, T.G.; FERRARI, M.V.; DORNBUSCH, P.T. Inseminação em ovelhas por videolaparoscopia por meio de acesso único: relato de caso. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.69, n.5, p.18-25, 2017.

NETO, V.P.F. Técnicas de superovulação em ruminantes. *Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.6, n.12, p.1331-1337, 2016.

PAULA, N.R.O. Produção *in vivo* ou *in vitro*: técnicas, problemas e perspectivas. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.2 p.21-35, 2008.

PAULA, N.R.O.; CARDOSO, J.F.S. Inseminação artificial: uma importante ferramenta biotecnológica para o incremento produtivo do rebanho caprino e ovino. 1ª ed., Caucaia: Editora Veleiros, 2018. 32p.

PHILLIPS, P.E.; JAHNKE, M.M. Embryo transfer (Techniques, donors, and recipients). *Veterinarian Clinic and North America Food Animal*, v.32, n.2, p.365–385, 2016.

PINTO, P.H.N.; BALARO, M.F.A.; ARASHIRO, E.K.N.; BATISTA, R.I.T.P.; OLIVEIRA, M.E.F.; BRAGANÇA, G.M.; FONSECA, J.F.; BRANDÃO, F.Z. Produção in vivo de embriões ovinos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.41, n.1, p.208-216, 2017.

RODRIGUEZ, M.G.K.; CAMPANHOLI, S.P.; MACIEL, G.S.; OLIVEIRA, M.E.F. Regressão luteal prematura em pequenos ruminantes. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.39, n.2, p.270-276, 2015.

RODRIGUEZ, M.G.K.; MACIEL, G.S.; USCATEGUI, R.A.R.; SANTOS, V.J.C.; NOCITI, R.P.; SILVA, P.D.A.; FELICIANO, M.A.R.; BRANDÃO, F.Z.; FONSECA, F.F.; OLIVEIRA, M.E.F. Early luteal development in SantaInês ewes superovulated with reduced doses of porcine follicle-stimulating hormone. *Reproduction in Domestic Animals*, v.54, n.3, p.456-463, 2019.

SANT, M. Resposta reprodutiva e custo por prenhez em função do escore de condição corporal de novilhas ao acasalamento. *Revista Iniciação Científica*, v.1, n.16, p.5-11, 2018.

TREVISOL, E.; FERREIRA, J.C.; ACKERMANN, C.L.; DESTRO, F.C.; FILHO, W.C.M.; CARMAGOS, A.S.; BIEHL, M.V.; AMARAL, J.B.; PANTOJA, J.C.F.; SARTORI, R.; FERREIRA, J.C.P. Luteal changes after treatment with sub-luteolytic doses of prostaglandin (cloprostenol sodium) in cattle. *Animal Reproduction Science*, v.153, n.1, p.8-12, 2015.

VALENTIM, R. Inseminação Artificial em Ovinos e Caprinos. *Agrotec*, v.20, n.3, p.10-13, 2016.