REPRODUÇÃO ANIMAL: TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EM ANIMAIS, E A INDÚSTRIA DE EMBRIÕES NO BRASIL

ANIMAL BREEDING: EMBRYO TRANSFER IN ANIMALS, AND THE EMBRYO INDUSTRY IN BRAZIL

Apoio:

Emanuel Isaque Cordeiro da Silva[1]
Departamento de Zootecnia da UFRPE
E-mail: emanuel.isaque@ufrpe.br
WhatsApp: (82)98143-8399

1. INTRODUÇÃO

A técnica da inseminação artificial tornou possível aumentar o impacto na descendência de touros geneticamente superiores em termos de produção láctea das filhas. Com a transferência de embriões é possível aumentar o impacto da fêmea sobre a população das filhas. A transferência de embriões data de 1890, ano em que Heape obteve o nascimento de coelhos transferindo ovócitos fecundados de uma fêmea para outra. A partir de 1930, é repetida uma série de experiências para desenvolver a técnica e aplicá-la em ovinos, caprinos (1934) e bovinos (1951) como espécies mais idôneas para a reprodução. A Inglaterra e os Estados Unidos estabeleceram as bases para o comércio de embriões durante os anos sessenta e setenta.

De forma resumida, a transferência de embriões implica na estimulação da produção de ovócitos mediante a aplicação de hormônios: cerca de 6-8 dias após a cobrição dessas fêmeas ou da sua inseminação artificial, os óvulos fertilizados são extraídos dos órgãos genitais da fêmea doadora por perfusão ou lavagem com soluções biológicas controladas e testadas, originando-se uma deposição dos gametas fecundados nas fêmeas receptoras que serão encarregadas de levar adiante a gestação e o parto sem influência sobre as produções do novo indivíduo.

[1] Bacharelando em Zootecnia pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (2019-). É tecnólogo em agropecuária pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco *Campus* Belo Jardim (2016-2018). Normalista pelo Frei Cassiano Comacchio (2014-2017). E-mails: eisaque335@gmail.com, eics@discente.ifpe.edu.br e emanuel.isaque@ufrpe.br. WhatsApp: (82)98143-8399.

A reprodução deste artigo é autorizada desde que citada a fonte. Caso não citada a fonte, os infratores estarão sujeitos às penalidades cabíveis, conforme o Artigo 184 do Código Penal e Lei 9.610/98. Todos os direitos reservados para Emanuel Isaque Cordeiro da Silva © 2020.

Emanuel Isaque Cordeiro da Silva
emanuel.isaque@ufrpe.br
(82)98143-8399

2. MANEJO DAS FÊMEAS DOADORAS

É relativamente fácil obter um embrião, uma vez que pode origina-se a partir do cio natural das vacas cíclicas. No entanto, a fim de otimizar a técnica, o normal é «superovular» a fêmea doadora e obter um número superior de gametas fecundadas após cada lavagem ou perfusão das genitais.

A maioria das fêmeas doadoras são tratadas com gonadotrofinas (PMSG) ou com hormônios estimuladores da foliculogênese (FSH). Estes hormônios invertem a atresia normal de folículos permitindo uma maturação, que em condições normais não se realizaria. O mecanismo exato do funcionamento destas hormonas não é totalmente claro. A superovulação multiplica por um fator de 10 o número de ovócitos recuperados no caso das vacas, ovelhas e cabras, mas apenas por um fator 2 ou 3 no caso das porcas.

Existe um acordo geral sobre a utilização das gonadotrofinas; a PMSG deve ser aplicada durante a transição da fase luteica para a folicular, ou seja, no 16º dia do ciclo. As doses de gonadotrofinas variam entre 1500 e 3000 UI em bovinos, aumentando a resposta e a variabilidade individual com o aumento da dose. A resposta ao tratamento varia de acordo em função de diversos fatores. Neste contexto, merecem especial atenção a espécie, a raça, a época e a conformação corporal do animal, bem como o lote de fabricação da preparação hormonal (quadro 7.1). Estudos demonstram que, nos bovinos, as raças de corte respondem melhor ao tratamento do que as raças leiteiras.

Tabela 1: Doses de gonadotrofinas em UI

Espécie	Dia do ciclo	Crescimento folicular		Ovulação	
		PMSG	FSH	PMSG	FSH
Bovinos	8 – 10	1500 – 3000	20 – 50	1500 – 2000	75 – 200
Caprinos	16 – 17	1000 – 1500	12 – 20	1000 – 1500	50 – 75
Ovinos	12 – 14	1000 – 2000	12 – 20	1000 – 1500	50 – 75
Suínos	15 – 17	750 – 1500	10 – 20	500 – 1000	25 – 50
Coelhos	—	25 – 75	2 – 3	25 – 75	2 – 3

Fonte: HAFEZ, 2004.

O FSH também é utilizado para superovulação em várias espécies. Nos ovinos, injetam-se 2 mg desta hormona 12 horas antes da retirada das esponjas, aplicando-se mais três injeções, com um intervalo de 12 horas, até 24 horas após a retirada das esponjas, o que corresponde a um total de 8 mg de FSH injetados por tratamento e animal. Às vezes, e dependendo do país,

Reprodução proibida. Todos os direitos reservados para Emanuel Isaque Cordeiro da Silva

existem dificuldades para a obtenção desse hormônio em condições de pureza adequada para que o tratamento proporcione o resultado esperado.

Nas vacas dadoras devem ter passado mais de 50 dias após o último parto: também ser animais cíclicos, encontrar-se num nível nutricional elevado e em aumento, sem deficiências especificas alimentares. Existe uma indicação de suplementação das fêmeas doadoras com minerais essenciais antes do tratamento.

3. OBTENÇÃO DE EMBRIÕES

Uma vez as fêmeas doadoras inseminadas, entre o sexto e o oitavo dia, procede-se a coleta dos embriões. Para isso, atualmente se utilizam cateteres de obtenção transcervical (tipo Foley, Rusch. etc.) munidos de uma bola insuflável na sua extremidade que permite criar um compartimento estanque na parte distal do córneo uterino e proceder ao arrasto dos embriões ali localizados. Para obter esta «lavagem» utiliza-se uma solução aquosa tamponada: o meio mais frequentemente utilizado é o tampão fosfato salino (PBS: pH = 7; PO = 280 - 290 mOsm/kg) suplementado com antibióticos e proteínas.

Depois de recuperado o meio de lavagem, os embriões devem ser isolados do volume total, avaliados segundo critérios do Manual da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões de acordo com seu estado de desenvolvimento.

Código numérico para determinar o grau de desenvolvimento embrionário:

N° 1: ovócito não fertilizado ou embrião de uma célula (1 dia).

N° 2: Identifica embriões com 2 a 16 células (2-4 dias).

N° 3: Identifica mórulas adiantadas (5-6 dias). N° 4: Identifica mórulas compactas de 6 dias de idade.

N° 5: blastocisto adiantado (7 dias).

N° 6: blastocisto (7-8 dias).

N° 7: blastocisto expandido (8-9 dias).

N° 8: blastocisto eclodido (9 dias) a partir do nono ou décimo dia o blastocisto já está fora da zona pelúcida.

Além da classificação por estado de desenvolvimento, a referida Sociedade Internacional estabeleceu uma categorização dos embriões com base na qualidade dos mesmos. Assim os denomina: 1: excelente; 2: bom; 3: regular; 4: degenerado. Segundo as investigações

Reprodução proibida. Todos os direitos reservados para Emanuel Isaque Cordeiro da Silva

de diversos autores especialistas no tema não devem ser transferidos embriões que não tenham sido classificados como excelentes ou bons.

A obtenção dos embriões pode ser realizada em uma clínica, em unidades móveis especializadas, ou na própria fazenda. Em todo o caso, a doadora não deve apresentar quaisquer sintomas clínicos de doença, sendo esta responsabilidade direta do veterinário. O rebanho de onde provém a doadora deve estar livre de medidas cautelares sanitárias. Os técnicos devem estar adequadamente limpos e preparados para esta atuação, em um lugar tranquilo e que permita a colocação de equipamentos e material em condições limpas e seguras.

4. TÉCNICAS DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES

Recomenda-se que os embriões sejam transferidos o mais rápido possível depois da recuperação. A fêmea receptora deve apresentar um ambiente uterino o mais semelhante possível ao da fêmea doadora. Isto quer dizer que a receptora também será mantida num sistema de sincronização para que coincida o mais possível o estágio de desenvolvimento embrionário com seu correspondente estado uterino. A margem de assincronia para evitar efeitos indesejáveis é de ± 24 horas. Os métodos hormonais de sincronização são análogos aos das doadoras.

As técnicas para a deposição dos embriões no seu novo habitat podem ser igualmente cirúrgicas e não cirúrgicas, mas devido aos problemas do uso de anestésicos em técnicas cirúrgicas, as transferências foram direcionadas para modelos não-cirúrgicos ou transcervicais. Este método é baseado na utilização do colo uterino de forma análoga como é realizada na inseminação artificial. Devido às relações entre o embrião e o ovário, as porcentagens de fertilidade são aumentadas ao serem depositadas no corno ipsilateral no ovário que se encontra ativo. A utilização desta técnica implica na obtenção de mais fêmeas gestantes. O uso de novilhas como fêmeas receptoras aumenta também a taxa de gestações a partir de uma maior facilidade de manejo, uniformidade na resposta hormonal e um custo mais baixo. O fator humano ou habilidade do técnico que realiza esta técnica também constitui um fator que influencia decisivamente no êxito da transferência, encontrando-se variações de 20 a 60% devidas a este fator.

5. CONTROLES SANITÁRIOS

Com a utilização da inseminação artificial, verificou-se que, embora as tecnologias reprodutivas colaborativas fossem mais avançadas em termos de técnicas destinadas a aumentar

Reprodução proibida. Todos os direitos reservados para Emanuel Isaque Cordeiro da Silva

a produtividade individual, da mesma forma, podem constituir um perigo de contaminação e de dispersão de doenças estrangeiras para o grupo ou rebanho para onde são transferidos os novos genes.

Neste contexto, a transferência embrionária (TE) deve realizar-se tendo em conta os riscos que pode implicar uma manipulação inadequada. Uma vez mais, a Sociedade Internacional (IETS) na Reunião Regional da OIE (Oficina Internacional de Epizootias) estabeleceu as normas em 1985 para que a TE pudesse ser utilizada como meio para controle de doenças na pecuária. Para que a utilização da TE se realize sem risco para a saúde, é necessário ter em conta um certo número de regras e condições específicas que evitem os riscos de contaminação.

O embrião está separado do meio externo por três barreiras de proteção: o corpo da mãe, o útero por si só e a terceira, e mais importante, pela zona pelúcida, a qual nos animais domésticos tem demonstrado ser totalmente impermeável a qualquer elemento patogênico, desde que fique intacta. Portanto, o risco de contaminação dos embriões pode vir por duas vias diferentes:

a) *Fatores extrínsecos* - por invasão dos agentes patogênicos na cavidade uterina principalmente. Isto está relacionado com o estado sanitário médio do país, região ou rebanho de origem.

b) *Fatores intrínsecos* - Segundo Thibier podemos considerar diferentes fontes potenciais de contaminação, que segundo o risco sanitário se classificam nas seguintes ordens:

1° Zigoto.

2° Penetração.

3° Absorção.

4° Armazenamento.

5° Exame.

6° Transferência.

Os esforços para que os embriões se tornem livres de contaminação devem ser semelhantes aos que são efetuados com os animais vivos e com as doses seminais. O momento mais perigoso encontra-se entre a coleta das células fecundadas e a sua deposição, após seu exame, no trato reprodutivo da receptora. As condições em que o referido processo deve ser realizado encontram-se detalhadas no manual da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões (IETS).

Reprodução proibida. Todos os direitos reservados para Emanuel Isaque Cordeiro da Silva

Emanuel Isaque Cordeiro da Silva
emanuel.isaque@ufrpe.br
(82)98143-8399

6. REGRAS DA IETS

A transferência de embriões é a via mais segura para a troca de genes. No entanto, os técnicos devem esforçar-se por manter todas as regras e normas sanitárias para que a coleta e a manipulação dos embriões se realizem sob condições de absoluta garantia higiênica e sanitária. A transferência embrionária implica, pela primeira vez na história da medicina veterinária, que a vigilância sanitária não se aplica estritamente ao animal, uma vez que, na sua fase "in vitro", está inteiramente sob o controle do técnico. Por conseguinte, não haverá futuro para este tipo de biotecnologia se, paralelamente, não houver um elevado nível de garantia de que não «servirá» para não disseminar ou difundir doenças.

As conclusões da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões (IETS) na sua reunião anual de 14 de Janeiro de 1992 estabelecem, tendo em conta a revisão efetuada em 1991 pela Subdireção de Investigação e pelo Comitê de Importação e Exportação, uma classificação das doenças. Esta classificação corresponde às seguintes categorias:

Categoria 1 - Doenças ou agentes de doenças para as quais foram recolhidas provas suficientes para afirmar que o risco de transmissão é negligenciável, desde que os embriões sejam corretamente manipulados entre a coleta e a transferência:

a) Leucose bovina enzoótica.
b) Febre aftosa (bovinos).
c) Língua azul (bovinos).
d) Brucelose bovina.
e) Rintraqueíte infecciosa bovina.
f) Doença de Aujeszky.

Categoria 2 - Doenças para as quais foram recolhidas provas substanciais que indicam que o risco de transmissão é insignificante, desde que os embriões sejam corretamente manipulados entre a coleta e a transferência, mas para as quais é necessário verificar os dados existentes através de novas transferências:

a) Peste suína clássica.

Categoria 3 - Doenças ou agentes de doenças para as quais os resultados preliminares indicam que o risco de transmissão é insignificante, desde que os embriões sejam corretamente manipulados, entre a coleta e a transferência, mas para os quais essas verificações preliminares devem ser corroboradas por dados experimentais complementares "in vitro" e "in vivo":

Reprodução proibida. Todos os direitos reservados para Emanuel Isaque Cordeiro da Silva

a) Peste bovina.

b) Diarreia viral bovina.

c) Língua azul (ovinos).

d) Febre aftosa (suínos, ovelhas e cabras).

e) *Campylobacter fetus* (ovinos).

f) Doença vesicular do porco.

g) Peste suína africana.

h) Prurido lombar (ovinos).

i) *Haemophilus somnus*.

Categoria 4 - Doenças ou agentes de doenças que foram ou são objeto de trabalhos preliminares:

a) Vírus Akabane (bovino).

b) Estomatite vesicular (bovinos e suínos).

c) *Chlamydia psittaci* (bovinos e suínos).

d) Ureaplasma/micoplasmose (bovinos e caprinos).

e) *Maedi-visna* (ovino).

f) Adenomatosa pulmonar (ovino).

g) Prurido lombar (caprinos).

h) Língua azul (caprinos).

i) Artrite e encefalite caprina.

j) Parvovírus (suíno).

k) Enterovírus (bovinos e suínos).

I) Leptospirose (suíno).

m) Herpesvírus 4 dos bovinos.

n) *Mycobacterium paratuberculose* (bovinos).

o) brucelose ovina.

p) Doença de Border (ovinos).

q) Vírus parainfluenza 3 (bovinos).

r) Agente da encefalopatia espongiforme bovina.

É interessante salientar que apenas seis doenças estão incluídas na categoria 1 (a mais segura). Isso não significa que as outras doenças tenham um risco maior, apenas indica que o risco de transmissão das doenças da categoria 1 é irrelevante, estatisticamente falando. É

Reprodução proibida. Todos os direitos reservados para Emanuel Isaque Cordeiro da Silva

importante assinalar que as doenças mais importantes dos bovinos se situam na categoria 1. Isto significa que a incidência do embrião patogênico nos bovinos parece ser perfeitamente controlável, desde que sejam adotadas metodologias adequadas. Isto serve também como linha de defesa adicional para que o técnico centre sua atenção e cuidados entre a fase de obtenção e a de transferência.

7. SITUAÇÃO ATUAL DA TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES ANIMAIS NO BRASIL

O Brasil é um dos grandes responsáveis mundiais pela implantação da tecnologia na reprodução animal, sendo assim, o país conseguiu inserir-se no mercado internacional como um dos maiores produtores de embriões *in vivo* e *in vitro*. Nas últimas duas décadas, especialmente entre os anos de 1997 e 2017 o país passou por importantes transformações nesse segmento, dentre essas transformações vale destacar a posição relativa do Brasil no contexto mundial. O Brasil passou de referência regional, nos anos 1990, para se tornar o maior produtor mundial de embriões entre os anos 2012 e 2013, sendo líder no uso e na produção de embriões *in vitro*. Os primeiros registros da TE produzidos *in vivo* no Brasil datam da década de 1980, e uma década depois o país já tornara-se referência e detinha um mercado consolidado de produção e TE na espécie bovina. Não obstante, no ano de 1997 o país ainda era referência apenas no contexto regional, detendo 68,3% dos embriões transferidos na América Latina, esse percentual corresponde a 24.085 embriões de um total de 35.254 produzidos na América Latina. Esse percentual regional representa apenas 6,6% de toda a produção mundial de embriões *in vivo*, que produziu, em 1997, 360.656 embriões *in vivo*.

Nos últimos anos, o mercado de embriões, principalmente o bovino, teve retração moderada de -2,5% ao ano entre 2003 e 2018, porém essa retração contrasta com o ligeiro crescimento observado a partir dos anos 2000 conforme figura 1:

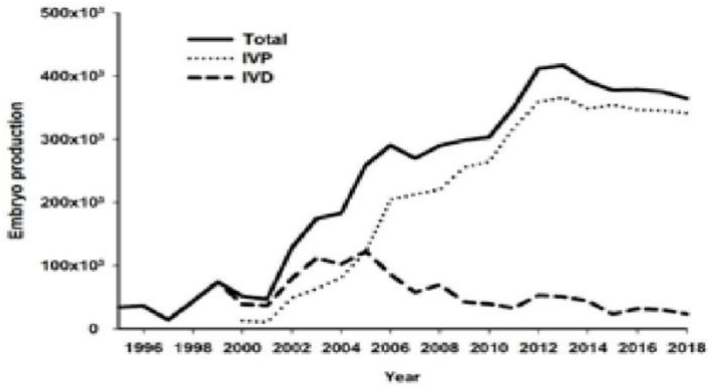

Figura 1: Produção de embriões bovinos no Brasil no período 1996-2018, total e por tecnologia adotada (in vivo[IVD] ou in vitro [IVP]).

Reprodução proibida. Todos os direitos reservados para Emanuel Isaque Cordeiro da Silva

Emanuel Isaque Cordeiro da Silva
emanuel.isaque@ufrpe.br
(82)98143-8399

Em 2018, o mercado de embriões bovinos manteve-se inalterado se compararmos com os três anos anteriores, houve reduções nós segmentos de corte, leite e no total comparado ao ano de 2017. Em 2014, a produção de embriões para melhoramento do gado leiteiro teve seu ápice, porém de lá para cá esse mercado manteve-se estagnado como demonstra a tabela 2.

SEGMENTO	*In vivo*	*In vitro*	TOTAL	Variação 2017-2018
Zebuínos leiteiros	6	15.175	15.181	16,8%
Taurinos leiteiros	17.148	168.897	186.045	-2,0%
Subtotal	**17.154**	**184.072**	**201.226**	**-0,8%**
Zebuínos de corte	1.017	107.644	108.661	11,5%
Taurinos de corte	5.048	49.867	54.915	-26,9%
Subtotal	**6.065**	**157.511**	**163.576**	**-5,3%**
Total Geral	**23.219**	**341.583**	**364.802**	**-2,8%**

Tabela 2: Produção de embriões bovinos no Brasil em 2018, estratificada por segmento e por tecnologia adotada (in vivo ou in vitro).

7.1 Crise, economia e mercado de embriões

A indústria de embriões reflete, em maior ou menor grau, o momento da economia brasileira.

Apesar do segmento agropecuário ser um setor em constante crescimento no país, ao qual, sem dúvidas, em meio a inúmeras crises mantém-se em constante crescimento. Porém vale ressaltar que esse mercado é emergente e está refletido em paralelo com os bens produzidos pelo país, como demonstra a figura 2.

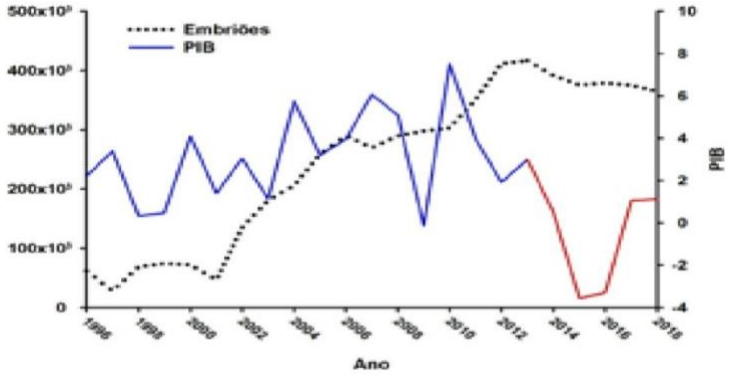

Figura 2: Produção de embriões bovinos e variação no produto interno bruto (PIB) no Brasil, no período 1996-2018.

Reprodução proibida. Todos os direitos reservados para Emanuel Isaque Cordeiro da Silva

Cada vez mais o setor agropecuário do Brasil investe em novas tecnologias que maximizem o mercado e que melhore a produção dos animais seja no segmento corte ou leite. Segundo a OCDE, 1997, essa indústria da produção de embriões é um conjunto de novas técnicas e processos, frutos do desenvolvimento técnico-científico, que chega ao mercado e - o mais importante - o transforma. Logo, todas essas técnicas e biotecnologias visam, além da alta produção e do lucro, o melhoramento e a suplementação alimentícia da população mundial que está em crescente avanço.

A evolução da tecnologia embrionária no país, seja para o melhoramento dos equinos para os esportes como as vaquejadas, hipismo, corridas, etc., onde são investidos tempo, dedicação e dinheiro para formar um novo animal que apresente força, conformação, conversão alimentar e que custa milhões, em muitos casos, não só dos equinos, mas também dos caprinos, ovinos, suínos e até mesmo os bovinos onde o mercado da TE é mais presente e aquecida, venceu os estigmas do "modismo" e o chamado "elitismo", porém deve enfrentar novos desafios, em especial num contexto de forte concentração do mercado de genética e de concorrência globalizada. Mesmo com todos esses avanços e retrocessos, essa relativização dos números demonstra que um percentual bastante reduzido das fêmeas bovinas que estão em idade reprodutiva é utilizado para a técnica da transferência de embriões, e que o mercado brasileiro ainda tem um grande potencial de crescimento no setor de produção *in vivo* e *in vitro*.

8. RESUMO E PRIMEIRAS CONCLUSÕES

Ao longo deste trabalho pretendi realizar uma revisão sumária sobre um tema de grande importância presente, e sobretudo futura; referir-me à transferência embrionária.

Atualmente, esta técnica atingiu um grau notável de penetração, a nível prático, no gado leiteiro. No entanto, num futuro mais ou menos longínquo, não temos dúvidas quanto a esta técnica, pelas vantagens indubitáveis que apresenta a nível de avanço genético, que será aplicada em outras espécies úteis ao homem.

Na minha exposição, tentei dar especial ênfase a dois aspectos: as técnicas de transferência, incluindo as normas IETS e os controles sanitários a serem efetuados.

Por fim, a indústria brasileira de embriões mostrou-se em retrocessos e avanços, porém o mercado ainda têm grandes desafios a serem enfrentados ao longo dos anos, mas que serão sanados mediante as técnicas desenvolvidas pelos inúmeros centros de pesquisa embrionárias e seus especialistas.

Reprodução proibida. Todos os direitos reservados para Emanuel Isaque Cordeiro da Silva

Realização

EMANUEL ISAQUE CORDEIRO DA SILVA
Técnico em Agropecuária – IFPE
Bacharelando em Zootecnia – UFRPE

Reprodução proibida. Todos os direitos reservados para Emanuel Isaque Cordeiro da Silva

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BALL, Peter JH; PETERS, Andy R. **Reproduction in cattle**. Nova Jersey: John Wiley & Sons, 2008.

BARUSELLI, Pietro Sampaio *et al*. Sêmen sexado: inseminação artificial e transferência de embriões. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 31, n. 3, p. 374-381, 2007.

BRACKELL, B. G.; JR SEIDEL, G. E.; SEIDEL, S. **Avances en zootecnia nuevas técnicas de reproducción animal**. Zaragoza: Acribia, 1988.

COLE, H. H.; CUPPS, P. T. **Reproduction in domestic animals**. 1ª ed. Londres: Academic Press, 1977.

CURTIS, John L. et al. **Cattle embryo transfer procedure. An instruction manual for the rancher, dairyman, artificial insemination technician, animal scientist, and veterinarian**. Londres: Academic Press, Inc., 1991.

DA SILVA, Emanuel Isaque Cordeiro. **Fisiologia da Reprodução Animal: Ovulação, Controle e Sincronização do Cio**. Disponível em: https://philpapers.org/rec/DASFDR. Acesso em: Março de 2020.

DA SILVA, Emanuel Isaque Cordeiro. **Fisiologia da Reprodução Animal: Fecundação e Gestação**. Disponível em: https://philpapers.org/rec/DASFDR-2. Acesso em: Março de 2020.

DE LA FUENTE, J. Manipulación de embriones en ganado vacuno. **Bovis**, n. 58, p. 51-61, 1994.

GIBBONS, A.; CUETO, M. **Manual de transferencia de embriones ovinos y caprinos**. Bariloche: Inta, 2013.

GONÇALVES, Paulo Bayard Dias; DE FIGUEIREDO, José Ricardo; DE FIGUEIRÊDO FREITAS, Vicente José. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. São Paulo: Editora Roca, 2008.

GONÇALVES, Rômany Louise Ribeiro; VIANA, João Henrique Moreira. Situação atual da produção de embriões bovinos no Brasil e no mundo. In: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia-Artigo em anais de congresso (ALICE). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 43, n. 2, p. 156-159, abr./jun. 2019., 2019.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. **Reprodução animal**. São Paulo: Manole, 2004.

HOPPER, Richard M. (Ed.). **Bovine reproduction**. Nova Jersey: John Wiley & Sons, 2014.

PÉREZ PÉREZ, F.; PÉREZ GUTIÉRREZ, F. **Reproducción animal, inseminación animal y transplante de embriones**. Barcelona: Cientifico-medica, 1985.

MANSOUR, R. T.; ABOULGHAR, M. A. Optimizing the embryo transfer technique. **Human reproduction**, v. 17, n. 5, p. 1149-1153, 2002.

MARTINS, Carlos Frederico. O impacto da transferência de embriões e da fecundação in vitro na produção de bovinos no Brasil. **Embrapa Cerrados-Artigo de divulgação na mídia (INFOTECA-E)**, 2010.

Reprodução proibida. Todos os direitos reservados para Emanuel Isaque Cordeiro da Silva

MCKINNON, A. O.; SQUIRES, E. L. Equine embryo transfer. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 4, n. 2, p. 305-333, 1988.

PALMA, G. A.; BREM, G. Transferencia de los embriones. GA Palma & G. Brem. **Transferencia de embriones y biotecnología de la reproducción en la especie bovina**. Ed. Hemisferio Sur. Buenos Aires, Argentina, p. 143-161, 1993.

SCHOOLCRAFT, William B.; SURREY, Eric S.; GARDNER, David K. Embryo transfer: techniques and variables affecting success. **Fertility and sterility**, v. 76, n. 5, p. 863-870, 2001.

SEIDEL, George E. Superovulation and embryo transfer in cattle. **Science**, v. 211, n. 4480, p. 351-358, 1981.

STRINGFELLOW, D. A.; SEIDEL, S. M. Manual of IETS. **Savoy IL: IETS**, p. 103-130, 1998.

STRINGFELLOW, D. A. **Manual da sociedade internacional de transferência de embriões**. Brasília: Sociedade Brasileira de Transferência de Embriões (SBTE), 1999.

THIBIER, M.; NIBART, M. Disease control and embryo importations. **Theriogenology**, v. 27, n. 1, p. 37-47, 1987.

VIANA, J. H. M. Produção e transferência de embriões bovinos em 2018. *In*: **Jornal o embrião**. Edição 64, ano 33. Brasília: SBTE, 2019.

Reprodução proibida. Todos os direitos reservados para Emanuel Isaque Cordeiro da Silva