

FATORES QUE AFETAM DOADORAS E RECEPTORAS EM PROGRAMAS DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÃO

Cliff Lamb

North Central Research and Outreach Center, University of Minnesota,
Grand Rapids, EUA

RESUMO

No início da década de 70 iniciou-se a transferência de embrião (TE) bovino comercial em bovinos. No começo, as técnicas para colheita e transferência eram exclusivamente cirúrgicas. Porém, por volta do final dos anos 70, a maioria dos embriões era colhida e transferida de forma não cirúrgica. Os bons resultados com a criopreservação de embriões se espalharam até o início da década de 80, seguidos da introdução da bipartição embrionária, procedimentos *in vitro*, transferência direta de embriões congelados e sexagem de embriões. A ampla disseminação e adoção do etileno glicol como crioprotetor simplificou os procedimentos de descongelamento e transferência de embriões congelados. A quantidade de embriões colhidos anualmente aumentou consideravelmente nos últimos 10 anos na América do Norte e na Europa. Contudo, houve um crescimento significativo da TE comercial na América do Sul, principalmente no Brasil. Apesar da adoção de várias tecnologias novas no setor de TE na última década, o procedimento básico da superovulação das doadoras foi objeto de poucas melhorias nos últimos 20 anos. Foram analisados os efeitos de inúmeros fatores nas taxas de prenhez de embriões bovinos congelados e frescos durante um período de anos em vários locais diferentes. No caso dos embriões frescos, as taxas totais de prenhez foram de 68,3% (n = 9.023) e 77,1% (n = 2.650) em diversos locais e intervalos de tempo. As taxas de prenhez de embriões congelados-descongelados foram de 56,1% (n = 3.616) nos Países Baixos e de 58,4% (n = 5.297) e 68,7% (n = 774) e dois estudos realizados nos EUA. As taxas de prenhez de transferências cirúrgicas *versus* não cirúrgicas foram bastante semelhantes. Não foram observadas diferenças nas taxas de prenhez de embriões de bovinos de corte *versus* de leite, mas foi maior em novilhas de corte e de leite e em vacas de corte do que em vacas leiteiras. A assincronia do estro entre mais e menos 24 h não afetou a taxa de prenhez com os embriões congelados-descongelados nem com os frescos. Nem a raça nem o número de lactação das receptoras tiveram efeito sobre a influência da assincronia nas taxas de prenhez. O grau do embrião foi um fator significativo na taxa de prenhez tanto com os embriões frescos como congelados-descongelados, mas nenhum estágio ou idade do embrião foi considerado um fator significativo. A taxa de prenhez não foi afetada pela manutenção dos embriões em solução de manutenção após a colheitas (lavagem) por até 3 h antes do congelamento. Portanto, há inúmeros possíveis fatores nas doadoras e receptoras que podem alterar as taxas de prenhez nos programas de transferência de embrião. Esta revisão vai se concentrar nesses fatores.

INTRODUÇÃO

A transferência de embriões em bovinos foi utilizada principalmente para aumentar as taxas de reprodução de fêmeas de alto valor. O ideal é utilizar esse procedimento para o melhoramento genético e maiores oportunidades de comercialização com gado de raça pura. Por causa da taxa de reprodução relativamente baixa e do longo intervalo de gestação, a transferência de embrião é útil principalmente no caso de bovinos (Seidel, 1991). Depois que embriões transferíveis são coletados da vaca doadora, toma-se a decisão sobre quais das receptoras disponíveis deveriam recebê-los, de forma a atingir o maior número de prenhez (Wright, 1981). A adequação das receptoras depende do momento certo do estro e da presença de um corpo lúteo funcional (CL). A maioria dos técnicos de transferência de embrião se baseia na palpação retal para identificar e caracterizar o tamanho e a integridade do corpo lúteo. A ultra-sonografia pode ser utilizada para

medir o corpo lúteo, definindo com maior precisão suas características (Kastelic et al., 1990; Singh et al., 1997). Os bons resultados da transferência de embrião dependem dos fatores associados ao embrião, à receptora ou a uma interação entre ambos. Muitos estudos se concentraram nesses fatores. Porém, as diferenças nas técnicas, nos pequenos tamanhos das amostras e em outros elementos limitaram a aplicabilidade dos resultados desses estudos à transferência de embrião conforme é atualmente praticada. Portanto, o objetivo dessa revisão é caracterizar os fatores que afetam doadoras e receptoras nos programas de transferência de embrião.

FATORES QUE AFETAM AS DOADORAS

Muitos fatores podem afetar a resposta das doadoras à superestimulação e a produção de um grande número de embriões fertilizados de boa a excelente qualidade. Fora do âmbito da genética, a nutrição talvez seja o único fator de maior importância que afeta a resposta das vacas doadoras à superestimulação. É importante garantir que as vacas sejam mantidas em um plano positivo de nutrição e que recebam uma dieta que atenda as necessidades para manutenção.

Em todo o setor de transferência de embrião, existe o atual dogma de que a administração de uma fonte orgânica de mineral antes da superovulação das doadoras aumenta o número total e a qualidade dos embriões transferíveis. Até hoje, nenhum estudo publicado demonstrou que isso aumenta a resposta das doadoras com produção de maiores quantidades de embriões transferíveis. Um estudo anterior inédito demonstrou que as doadoras que recebem mineral orgânico podem produzir maior número de embriões, mas esse relato não conseguiu comprovar que esse componente tenha aumentado a qualidade ou a quantidade de embriões. Portanto, realizamos um estudo para verificar se a suplementação com microminerais antes da coleta de embrião afetava a produção e a qualidade dos embriões.

Neste estudo (Quadro 1; Lamb et al., 2004), entre todas as novilhas, o número total de embriões recuperados foi igual entre os tratamentos. A quantidade de embriões não fertilizados foi maior nas novilhas que receberam fonte de minerais inorgânicos do que nas alimentadas com orgânicos, enquanto que as controle apresentaram resultados intermediários. Ademais, as novilhas controle tiveram maior número de embriões degenerados do que as alimentadas com microminerais inorgânicos e orgânicos. As novilhas alimentadas com minerais orgânicos produziram maior número de embriões transferíveis do que as que receberam inorgânicos, sendo que as controle permaneceram num nível intermediário. Embora pareça que as novilhas alimentadas com microminerais orgânicos tenham produzido mais embriões transferíveis do que as que receberam inorgânicos, não há uma explicação para a não observação de diferenças nas controle. Portanto, concluímos que é provável que a fonte mineral não influencie nem a qualidade nem a quantidade de embriões.

Outros fatores mais importantes tendem a afetar a resposta das doadoras mais do que a nutrição de minerais. Por exemplo, vacas da raça zebu (*Bos indicus*) respondem diferente de vacas de raças de origem européia (*Bos Taurus*) em termos de quantidade de hormônio administrado ou do momento certo para o tratamento hormonal. Como no Brasil predominam as raças zebuínas (*Bos Indicus*), essa parte vai se concentrar nos protocolos de superestimulação que aumentam a produção de embrião nesses bovinos.

A ovulação múltipla seguida de transferência de embrião (MOET do original em inglês *Multiple Ovulation and Embryo Transfer*) é uma das tecnologias na área da reprodução que facilitam o melhoramento genético do gado zebu. Infelizmente, a grande variabilidade da resposta folicular ovariana à estimulação das gonadotropinas continua sendo um problema importante nos programas comerciais de MOET (Adams, 1994), apesar das inúmeras pesquisas nessa área (Hyttel et al., 1991; Stock et al., 1996).

Após a caracterização da dinâmica folicular em bovinos zebuínos (*Bos Indicus*) (Castillo et al., 2000), foi possível desenvolver tratamentos hormonais para controlar o crescimento folicular e o momento da ovulação, permitindo-se assim a inseminação artificial em tempo fixo. Da mesma forma, o desenvolvimento

Quadro 3. Produção de embriões em novilhas suplementadas com minerais inorgânicos, orgânicos ou que não receberam nenhum mineral após superovulação com o hormônio folículo estimulante (FSH) (Lamb et al., 2004).

Item	Tratamentos ^a			
	Controle	Inorgânico	Orgânico	Valor-P
	—n ± DP—			
Todas as novilhas tratadas^b:				
Nº de novilhas	49	51	51	
Total de embriões recuperados	4,24 ± 0,60	3,64 ± 0,60	3,29 ± 0,58	0,5219
Degenerados/clivados	0,93 ± 0,24 ^x	0,26 ± 0,23 ^y	0,25 ± 0,23 ^y	0,0632
Não fertilizados	1,31 ± 0,37 ^x	2,32 ± 0,36 ^y	0,82 ± 0,36 ^x	0,0135
Transferíveis	2,01 ± 0,39 ^{xy}	1,07 ± 0,38 ^y	2,18 ± 0,38 ^x	0,0900
Grau 1	1,43 ± 0,33	0,82 ± 0,32	1,43 ± 0,32	0,2955
Grau 2	0,56 ± 0,14 ^{xy}	0,23 ± 0,13 ^x	0,68 ± 0,13 ^y	0,0494
Grau 3	0,00 ± 0,03	0,02 ± 0,03	0,06 ± 0,03	0,1948

^a Novilhas que receberam 0,11 kg de mineral orgânico, 0,11 kg de inorgânico ou nenhum mineral nos 23 dias antes da coleta dos embriões.

^b Todas as novilhas receberam o FSH.

^{x,y} Médias diferentes na mesma linha diferem (P < 0,05).

folicular e a ovulação podem ser farmacologicamente manipulados para melhorar os protocolos de MOET em gado zebu (Barros et al., 2000). Veterinários brasileiros relataram uma inconsistência após o tratamento de superestimulação aparentemente maior em raças zebras do que nas de origem européia (*Bos Taurus*) (Gradela et al., 1996). São inúmeros os motivos dessa variação nos resultados de gado de raças zebuínas, tais como a maior dificuldade de detectar o estro, os antecedentes genéticos, a maior sensibilidade ao estresse manejo e peculiaridades fisiológicas ou anatômicas desse tipo de bovinos.

Em gado zebu, vários estudos avaliaram a resposta superovulatória com doses menores de Pluset (um produto com proporção relativamente alta de LH:FSH, Pluset, Serono, Itália). A produção de embriões transferíveis não foi alterada significativamente (2,1 a 10 X 2,8 a 10,1) após a redução da dose total de 350 a 500 para 200 a 300 pela via IV, respectivamente (Visintin et al., 1996; Gradela et al., 1998; Pinto Neto et al., 2000). Esses estudos mostram que o gado zebu pode necessitar de menos FSH do que vacas de raças européias (*Bos Taurus*) para atingir uma resposta superovulatória ideal. Entretanto, doses menores de um FSH purificado de origem suína (pFSH, Folltropin-V, Bioniche Animal Health, Canadá) com cerca de 80% do hormônio luteinizante (LH) retirado não diminuíram a resposta superovulatória de 15 novilhas zebu (*Bos Indicus*), que produziram 9,37 e 9,6 embriões transferíveis, após utilização de 200 e 160 mg de pFSH, respectivamente (Fernandes and Santos, 2000). Atualmente estão sendo realizados experimentos com o uso de concentrações cada vez menores de FSH (300, 200 e 100 mg, Folltropin-V) e a comparação simultânea da resposta superovulatória de doadoras de raças zebuínas (*Bos Indicus*) e de origem européia (*Bos Taurus*), para se testar a hipótese de que o gado zebu é mais sensível ao tratamento com FSH do que as raças européias.

O uso da somatotropina bovina (bST) recombinante é uma opção promissora para aumentar o recrutamento folicular antes da superovulação. A bST é capaz de estimular a síntese do fator de crescimento semelhante à insulina I (IGF-I) em muitos tecidos, inclusive no ovário. Spicer & Geisert (1992) demonstraram que os folículos pequenos contêm menores quantidades de IGF-I do que os de tamanho médio ou grande. Katz et al. (1993) sugeriram a presença de um sistema intra-ovariano de IGF-I, com receptores e proteínas de ligação. Considerando-se que o bST consegue estimular a síntese de IGF-I, que por sua vez estimula as células da granulosa, supõe-se que o bST pode influenciar a resposta superovulatória. Embora alguns relatos tenham demonstrado aumento tanto da superestimulação ovariana como do número de embriões (Herrler et al., 1994), nem todos observaram resposta positiva (Gray et al., 1993). Moreira et al. (2001) relataram aumento das taxas de prenhez em receptoras tratadas com bST um dia após o estro e que receberam uma outra injeção a cada 14 dias ou que receberam embriões de doadoras que haviam recebido injeção de bST na inseminação.

Uma das estratégias mais promissoras é o uso de tratamentos hormonais para a sincronização da onda folicular, de forma que a administração do FSH coincida com o início de uma nova onda. Bo et al. (1991, 1996) testaram a associação de estrógenos (estradiol 17-13 ou valerato de estradiol) com progestina (progesterona, CIDR-B, ou norgestomet, Synchromate-B) para indução do “turnover” folicular e sincronização de uma nova onda. A progestina é mantida durante 6 a 7 dias e o estrógeno (2,5 a 5 mg de benzoato de estradiol) é administrado um dia após a progestina ou como opção pode ser injetado simultaneamente com uma injeção de progesterona (IM, 50 a 100 mg) no momento em que as doadoras recebem o dispositivo intravaginal (CIDR-B) ou o implante na orelha (norgestomet). Eles observaram que o estrógeno quando associado à progestina induzia o crescimento sincronizado de uma nova onda folicular, aproximadamente 4 a 5 dias após a administração. Portanto, o tratamento para superovulação (uma única injeção pela via SC ou 8 a cada 12 h, dose total de 400 mg de NIH-FSH-PI Folltropin-V) se inicia 4 a 5 dias após a injeção de estrógeno, coincidindo com o início de uma nova onda folicular. É administrado um luteolítico (PGF) 48 h após o início do tratamento de superovulação e a fonte de progestina é retirada 12 h após a administração de PGF. A inseminação artificial é realizada 12 e 24 h após o início do estro, por volta da 60 e 72 h após a injeção de PGF. Esses tratamentos resultaram em uma quantidade de embriões transferíveis igual ou superior às observadas com tratamentos tradicionais de superovulação feitos entre o dia 8 e 12 do ciclo estral (Bo et al., 1991, 1996). Uma das vantagens desse protocolo é que ele facilita o manejo das doadoras, pois pode ser iniciado em fases aleatórias do ciclo estral.

Em resumo, apesar dos avanços na manipulação do desenvolvimento folicular em bovinos para facilitar o manejo das doadoras, a grande variabilidade da resposta folicular ovariana à estimulação da gonadotropina continua sendo um problema importante em programas de transferência de embriões, justificando a necessidade de mais pesquisas.

FATORES QUE AFETAM AS RECEPTORAS

Em um grande estudo de campo, sincronizamos (Spell et al., 2001) os estros de 763 possíveis receptoras. As vacas e novilhas foram observadas no mínimo 4 vezes ao dia para verificar a ocorrência de sinais de estro. Com base na detecção do estro, 526 receptoras foram avaliadas para a transferência de embrião. No momento programado para a transferência, um técnico realizou exames de ultra-som transretal das estruturas ovarianas. Além das medições do CL por ultra-som nas receptoras, foi proposto um escore de qualidade no CL de cada uma das receptoras após a palpação retal. Foram coletadas amostras de sangue de todas as receptoras avaliadas para a transferência de embrião.

Todas as receptoras consideradas adequadas para a transferência de embrião com base na avaliação de ultra-sonografia receberam um único embrião fresco ou congelado-descongelado, utilizando-se uma técnica padrão de transferência em conformidade com a Sociedade Internacional de Transferência de Embriões

(Savoy, IL). Os embriões haviam sido colhidos de 43 doadoras Angus, filhas de 10 diferentes touros Angus. Os embriões foram transferidos 6,5 a 8,5 dias após a detecção do estro.

O procedimento de retirada do embrião do ambiente uterino natural aumenta o nível de estresse por ele sofrido. Quando os embriões sofrem mais estresse externo, como congelamento e descongelamento, o resultado é uma diminuição da taxa de sobrevivência. Nossos achados de uma queda de 83% na taxa de prenhez com embriões fresco para 69% com embriões congelados-descongelados são iguais as quedas relatadas anteriormente de 10 para 15% nas taxas de prenhez (Quadro 1; 14,29). Os resultados neste estudo não refletem nenhuma diferença nas taxas de prenhez entre as vacas que receberam embrião grau 1 ou 2. Em relatos anteriores (Coleman et al., 1987; Hasler et al., 1987; Schneider et al., 1980; Wright, 1981) foi registrada uma diminuição da taxa de prenhez com a correspondente queda no escore de qualidade do embrião.

Quadro 1. Efeitos do tipo de embrião, sincronia entre doadoras-receptoras, grau de qualidade do embrião e número de lactações das receptoras sobre as taxas de prenhez de embriões transferidos (Spell et al. 2001).

Item	No. de Transferências	Taxa de prenhez, n° (%)	Valor-P ^d
Tipo de embrião			0,01
Fresco	122	101 (82,8) ^x	
Congelado	326	225 (69,0) ^y	
Sincronia ^a			0,43
-24	4	2 (50,0)	
-12	76	54 (71,0)	
0	205	144 (70,2)	
+12	135	103 (76,3)	
+24	27	22 (81,5)	
Estádio do embrião ^b			0,62
3	2	1 (50,0)	
4	282	207 (73,4)	
5	145	106 (73,1)	
6	19	12 (63,2)	
Grau do embrião ^c			0,34
1	182	135 (74,1)	
2	266	191 (71,8)	

^a Horas do primeiro estro detectado na receptora em relação à doadoras

^b 3 = mórula inicial, 4 = mórula compacta, 5 = blastocisto inicial, 6 = blastocisto

^c 1 = excelente, 2 = bom

^d Probabilidade de diferenças entre os níveis de cada efeito principal

As taxas de prenhez não foram prejudicadas quando a receptora apresentava estro num intervalo de 24 horas antes ou após a doadora. Maiores taxas de prenhez foram observadas, quando as receptoras estavam em estro ao mesmo tempo em que a doadora ou 12 horas antes das doadoras. As taxas de prenhez diminuíram nas receptoras em estro 12 horas após a doadora (Hasler et al., 1987; Schneider et al., 1980). Os resultados de outros relatos (Sreenan and Diskin, 1987) coincidem com os de nosso estudo (Quadro 1, Spell et al., 2001), não registrando nenhuma diferença significativa na sincronia receptora-doadora, quando a sincronia entre a doadora e as receptoras estivesse dentro do intervalo de 24 h. Talvez os embriões de vacas superovuladas pudessem estar em fase mais adiantada de desenvolvimento com relação aos dos animais controle não tratados (Hasler et al., 1987). Em búfalos, a taxa de prenhez foi elevada, quando as doadoras e as receptoras foram sincronizadas para apresentarem estro num intervalo dentro 12 horas de diferença (41%), enquanto foi observado um comprometimento das taxas de prenhez quando a sincronia ficou próxima de 12 h (18%). Quando a sincronia ultrapassou as 12 h, as receptoras não ficaram gestantes (Misra et al., 1999).

Quando concentrações de progesterona permaneceram em 0,58 ng/mL ou acima de 16 ng/mL, não foram observadas diferenças nas taxas de prenhez (Spell et al., 2001). A variabilidade dos níveis de progesterona reflete uma combinação de diversas taxas de desenvolvimento do CL e a flutuação da secreção de progesterona durante a fase luteínica inicial. A concentração ideal de progesterona na circulação para estabelecer a prenhez parece variar entre 2 e 5 ng/mL (Niemann et al., 1985). Esse estudo mostra que o limite mínimo necessário de progesterona essencial para o estabelecimento e a manutenção da prenhez no dia da transferência do embrião pode ser menor do que relatado anteriormente. Além disso, um segundo estudo indicou que de 177 receptoras prenhes, 8 apresentavam níveis de progesterona <0,5 ng/mL no dia 10, 11 e 12 do ciclo estral (Hasler et al., 1980). Os valores médios das características luteínicas e das concentrações de progesterona no plasma são mostrados no Quadro 2 (Spell et al., 2001). O diâmetro e o volume do tecido do corpo lúteo diferiram entre as receptoras que receberam um embrião de 6,5 a 8,5 dias pós-estro. O diâmetro do corpo lúteo e o volume do tecido luteal eram maiores, à medida que aumentavam os dias pós-estro nas receptoras. Contudo, as taxas de prenhez não diferiram entre as receptoras que receberam embriões de 6,5 a 8,5 dias pós-estro.

Quadro 2. Característica do corpo lúteo (CL) e média das concentrações plasmáticas de progesterona em receptoras de transferência de embrião prenhes ou não prenhes

Item	Média geral	Variação dos valores	Média das prenhes ^a	Média das não prenhes ^b	Valor-P ^c
Diâmetro do CL, mm	24,0	10,8 – 46,3	24,1	24,0	0,96
Volume do tecido luteal, cm ³	7,0	0,6 – 26,9	7,1	6,8	0,59
CL com cavidade, % de receptoras	79	NA	77	83	0,12
Progesterona no plasma, ng/mL	4,0	0,6 – 16,9	4,1	3,9	0,44

^a Valor médio nas receptoras que engravidaram após transferência de embrião.

^b Valor médio nas receptoras que não engravidaram após transferência de embrião.

^c Diferem os valores de probabilidade em receptoras prenhes e não prenhes.

Pode-se utilizar o aspecto do CL para estimar a fase do ciclo estral em bovinos (Kastelic et al., 1990; Singh et al, 1997), apesar das diferenças no desenvolvimento do CL diminuírem a exatidão das estimativas. Um maior percentual de corpos lúteos exibe presença de fluido no lúmen no início do diestro do que durante o final desse estágio e em fases adiantadas de prenhez. Marciel et al. (1992) relataram uma alta correlação entre a concentração de progesterona e a massa e o volume do CL. Ao utilizar valores de pixels obtidos através da análise quantitativa da ecotextura de imagens de ultra-som, foi observado aumento desses valores do metestro até metade do diestro e durante o proestro (Singh et al., 1997). Os valores de pixels das imagens de ultra-som estavam fortemente correlacionados com as concentrações de progesterona nos tecidos luteínicos e no plasma, com as densidades do volume das células luteínicas e do estroma. Além disso, Ireland et al. (1980) relataram que 18% das vacas com CL funcional confirmado através de palpação retal apresentavam níveis plasmáticos de progesterona abaixo do que se esperado para manter a prenhez. Ao contrário, Perry et al. (1991) verificaram, com o uso de ultra-sonografia transretal, que vacas com tecido luteínico visível apresentavam concentrações séricas de progesterona superiores a 0,5 ng/mL.

Atualmente há muitas variações no setor de transferência de embriões. Com base nesses estudos não há motivo para se desviar da prática normal de realizar a transferência de forma sincronizada, sempre que possível. Porém, parece que a assincronia de 24 horas entre a receptora e a doadora não diminui as taxas de concepção. Com o uso da ultra-sonografia transretal, a avaliação minuciosa das estruturas ovarianas mostrou que o melhor indicador da adequação de uma possível receptora de transferência de embrião é a observação do estro e a palpação do corpo lúteo, qualquer que seja o tamanho ou a qualidade. Concentrações de progesterona no momento da transferência do embrião não foram prognósticos de taxas de prenhez.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adams, G.P. 1994. Control of ovarian follicular wave dynamics in cattle: implications for synchronization and superstimulation. *Theriogenology* 41:19-24.
- Barros, C.M., M.F.G. Nogueira, and P.A.T. Andreussi. 2000. Superovulation and fixed time artificial insemination. *Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS* 28(Suppl. 1):52-64.
- Bo, G.A., R.A. Pierson, and R.J. Mapletoft. 1991. The effect of estradiol valerate on follicular dynamics and superovulatory response in cows with Synchro-Mate B implants. *Theriogenology* 36:169-183.
- Bo, G.A., G.P. Adams, R.A. Pierson, and R.J. Mapletoft. Effects of progestogen plus estradiol-17b treatment on superovulatory response in beef cattle. *Theriogenology* 45:897-910.
- Castillo, C., A.L.G. Gambini, P. Fernandes, L.A. Trinca, A.B. Teixeira, and C.M. Barros. 2000. Synchronization of ovulation in crossbred dairy heifers using gonadotropin-releasing hormone agonist, prostaglandin F2a and human chorionic gonadotropin or estradiol benzoate. *Brazilian J. Medical and Biol. Res.* 33:91-101.
- Coleman, D.A., R.A. Dailey, R.E. Leffel, and R.D. Baker. 1987. Estrous synchronization and establishment of pregnancy in bovine embryo transfer recipients. *J. Dairy Sci.* 70:858-866.
- Fernandes, C.A.C., and I.C. Santos. 2000. Folitropin-V dose-response on the superovulation of beef heifers. *Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS* 28(Suppl. 1):250(abstr.).
- Figueiredo, R.A., C.M. Barros, and O.L. Pinheiro, J.M.P. Soler. 1997. Ovarian follicular dynamics in Nelore Breed (*Bos Indicus*). *Theriogenology* 47:1489-1505.
- Gradela, A., C.R. Esper, and A.A.M. Rosa e Silva. 1996. Plasma concentrations of progesterone, 17b-estradiol and androstenedione and superovulatory response of Nelore cows (*Bos Indicus*) treated with FSH. *Theriogenology* 45:843-850.

- Gradela, A. and C.R. Esper. 1998. Ultrasound evaluation of follicular dominance and superovulatory response in Nelore cows. *Arquivos da Faculdade de Veterinaria UFRGS* 26(Suppl. 1):285(Abstr.).
- Gray, B.W., D.A. Stringfellow, M.G. Riddell, K.P. Riddell, G. Davenport, and J.C. Wright. 1993. The effect of treatment with bovine somatotropin (BST) on the superovulatory response of cattle. *Theriogenology* 39:227.
- Hasler, J.F., R.A. Bowen, L.D. Nelson, and G.E. Seidel, Jr. 1980. Serum progesterone concentrations in cows receiving embryo transfers. *J. Reprod. Fertil.* 58:71-7.
- Hasler, J.F., A.D. McCauley, W.F. Lathrop, and R.H. Foote. 1987. Effect of donor-recipient interactions on pregnancy rate in a large - scale bovine embryo transfer program. *Theriogenology* 27:139-168.
- Herrler, A., R. Einspanier, D. Scharns, and H. Niemann. 1994. Effect of recombinant bovine somatotropin (rBST) on follicular IGF-I contents and the ovarian response following superovulatory treatment in dairy cows: a preliminary study. *Theriogenology* 41:601-611.
- Hyttel, P., H. Callesen, T. Greve, and M. Schmidt. 1991. Oocyte maturation and sperm transport in superovulated cattle. *Theriogenology* 35:91-108.
- Ireland, J.J., R.L. Murphy, and P.B. Coalson. Accuracy of predicting stages of bovine estrous cycle by gross appearance of the corpus luteum. *J. Dairy Sci.* 663:155-160.
- Kastelic, J.P., R.A. Pierson, and O.J. Ginther. 1990. Ultrasonic morphology of corpora lutea and central cavities during the estrous cycle and early pregnancy in heifers. *Theriogenology* 34:487-498.
- Katz, E., E. Ricciarelli, and E.Y. Adashi. 1993. The potential relevance of growth hormone to female reproductive physiology and pathophysiology. *Fertil. Steril.* 59:8-34.
- Lamb, G.C., D.R. Brown, R.C. Wasson, J.E. Larson, C.R. Dahlen, and A. DiCostanzo. 2003. Effect of Trace Mineral Nutrition on Follicular Response, Ovulation, and Embryo Production in Superovulated Angus Heifers. *J. Reprod. Fertil.* 16(1,2):289(Abstr.).
- Marciel, M., H. Rodriguez-Martinez, and H. Gustafsson. Fine structure of corpora lutea in superovulated heifers. *Zentralbl. Veterinärmed.* 39:89-97.
- Misra, A.K., M.M. Rao, R. Kasiraj, N.S. Reddy, and H.C. Pant. 1999. Factors affecting pregnancy rate following nonsurgical embryo transfer in buffalo (*Bubalus bubalis*): a retrospective study *Theriogenology* 52:1-10.
- Moreira, F., L. Badinga, C. Burnley, and W.W. Thatcher. 2001. Effects of bovine somatotropin on embryo transfer in lactating dairy cows. *Theriogenology* 55:367(Abstr.).
- Niemann, H., B. Sacher, and F. Elasaesser. 1985. Pregnancy rates relative to recipient plasma progesterone levels on the day of non-surgical transfer of frozen/thawed bovine embryos. *Theriogenology* 23:631-639.
- Perry, R.C., L.R. Corah, G.H. Kiracofe, and J.S. Stevenson, W.E. Beal. 1991. Endocrine changes and ultrasonography of ovaries in suckled beef cows during resumption of postpartum estrous cycles. *J. Anim. Sci.* 69:2548-2555.
- Pinto Neto, A., J.M. Silva Filho, J.F. Fonseca, M.F. Mota, H. Belisario, W.S. Pardini, and M.T.T. Alvim. 2000. Performance of donor cows from Nelore breed in an embryo transfer program. *Arquivos da Faculdade de Veterinaria UFRGS* 28(Suppl. 1):311(Abstr.).
- Schneider, H.J. Jr., R.S. Castleberry, and J.L. Griffin. 1980. Commercial aspects of bovine embryo transfer. *Theriogenology* 13:73-85.

- Seidel, G.E., Jr. 1991. Applications of embryo transfer, In: Training manual for embryo transfer in cattle. Pp. 3 - 13.
- Singh, J., R.A. Pierson, and G.P. Adams. 1997. Ultrasound image attributes of the bovine corpus luteum: structural and functional correlates. *J. Reprod. Fertil.* 109:35-44.
- Spell, A.R., W.E. Beal, L.R. Corah, and G.C. Lamb. 2001. Evaluating recipient and embryo factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in beef cattle. *Theriogenology* 56:287-298.
- Spicer, L.J. and R.D. Geisert. 1992. Concentrations of insulin-like growth factor-I, estradiol and progesterone in follicular fluid of ovarian follicles during early pregnancy in cattle. *Theriogenology* 37:749-760.
- Sreenan, J.M. and M.G. Diskin. 1987. Factors affecting pregnancy rate following embryo transfer in the cow. *Theriogenology* 27:99-113.
- Stock, A.E., J.E. Ellington, and J.E. Fortune. 1996. A dominant follicle does not affect follicular recruitment by superovulatory doses of FSH in cattle but can inhibit ovulation. *Theriogenology* 45:1091-1102.
- Visintin, J.A., R.P. Arru9da, E.H. Madureira, K. Mizuta, E.C.C. Celeghini, M.E.O.A. Assumpcao, P.P.G. Gusmoes, and P.H. Candini. 1996. Effect of different doses of FSH/LH on superovulatory response in Nelore heifers. *Arquivos da Faculdade de Veterinaria UFRGS* 24(Suppl. 1):222(Abstr.).
- Wright, J.M. 1981. Non-surgical embryo transfer in cattle, embryo-recipient interaction. *Theriogenology* 15:43-56.