

FATORES QUE INFLUENCIAM A RESPOSTA DE DOADORAS E RECEPTORAS

Cliff Lamb

North Florida Research and Education Center, University of Florida

INTRODUÇÃO

Desde que a transferência de embriões ficou comercialmente disponível no início da década de 70, milhões de embriões foram transferidos internacionalmente. De acordo com a Comissão de Recuperação de Dados da International Embryo Transfer Society (IETS), anualmente são transferidos globalmente, em média, cerca de 500 mil embriões de bovinos (Thibier, 2004). Em bovinos, o principal uso da transferência de embriões tem sido o de amplificar as taxas reprodutivas de fêmeas valiosas. De forma ideal, a transferência de embriões pode ser usada para intensificar o melhoramento genético e aumentar as oportunidades de comercialização com bovinos de raça pura. Por causa de sua taxa reprodutiva relativamente baixa e o longo intervalo entre gerações, a transferência de embriões é particularmente útil com bovinos (Seidel, 1991). Uma vez coletados os embriões transferíveis da vaca doadora, é tomada uma decisão sobre quais as receptoras disponíveis que devem receber os embriões para alcançar o maior número de gestações (Wright, 1981). A adequacidade das receptoras depende do estágio do estro e da presença de um corpo lúteo funcional (CL). A maioria dos técnicos de transferência de embriões recorre à palpação retal para identificar e caracterizar o tamanho e a integridade do corpo lúteo. A ultrassonografia pode ser usada para medir a estrutura lútea e definir suas características com maior precisão (Kastelic et al., 1990; Singh et al., 1997). O sucesso da transferência do embrião depende de fatores associados ao embrião, à receptora ou a uma interação entre fatores do embrião e da receptora. Muitos estudos enfocaram estes fatores. Entretanto, diferenças nas técnicas usadas, pequeno tamanho da amostra e outros elementos limitaram a aplicabilidade dos resultados destes estudos à transferência de embriões como é praticada atualmente. Por isto, o objetivo desta revisão é caracterizar de que forma os efeitos sobre a doadora e a receptora afetam o sucesso do programa de transferência de embriões.

FATORES ASSOCIADOS COM AS DOADORAS

Superovulação

Em um grande estudo realizado por Stroud e Hasler, 2006, que enfocou os fatores que afetam a resposta de doadoras e receptoras, foi verificado que as doadoras da Fazenda A produziam, em média, 15,8 óvulos/embriões e 9,8 embriões viáveis ou transferíveis por coleta comparado à média geral de 9,4 óvulos/embriões e 4,5 embriões transferíveis por coleta. Mais de 99% dos embriões de bovinos de leite e a maioria dos embriões de bovinos de corte em programas comerciais de transferência de embriões são obtidos de fêmeas superovuladas. A superovulação, entretanto, não é um processo natural para os bovinos. As vacas que ciclam normalmente, ovulam um óvulo por ciclo estral, e múltiplos folículos, que normalmente sofreriam atresia, são estimulados a crescer e ovular como resultado de um processo de superestimulação (Romero et al., 1991). Vários bilhões de espermatozoides frescos são normalmente depositados na vagina de vacas com uma única ovulação que passam pela monta natural. Em vacas com uma única ovulação, que não foram superestimuladas, foram relatadas taxas de fertilização de 85–90% (Diskin e Sreenin, 1980) e ocasionalmente chegando próximo de 100% (Hawk e Tanabe, 1986). De acordo com relatos na literatura, as taxas de fertilização em bovinos superestimulados variam entre 50 e 70% (Hasler, 1992).

Na vaca, a superstimulação requer um período de 3 ou 4 dias de tratamento com gonadotropina, seguida pela detecção de estro e IA. Todos estes passos representam oportunidades para erro. Alguns dos mais importantes fatores que resultam em alto nível de sucesso com a superovulação são (1) experiência e habilidade no manejo da doadora; (2) genética da doadora; (3) nutrição da doadora; (4) idade da doadora; (5) estágio da lactação da doadora; (6) qualidade do sêmen; (7) momento da inseminação.

É bastante provável que a experiência no manejo da doadora seja a variável isolada mais importante que afeta os resultados da superovulação, uma vez que engloba todos os outros itens da lista. Os responsáveis pelo manejo de doadoras que conseguem sucesso entendem e implantam os fatores de forma rotineira. Os que têm baixa qualificação não entendem plenamente estes fatores e por isso têm dificuldade em utilizá-los (Stroud e Hasler, 2006).

Manejo da doadora

A experiência em operações individuais com bovinos para assegurar que sejam selecionadas as fêmeas que superovulam bem, frequentemente leva a resultados mais consistentes e uma progênie subsequente que produz fêmeas que superovulam bem. Entretanto, isto se opõe às conclusões de Tonhati et al. (1999), que estudaram os registros de 5387 coletas de embriões no Brasil e descreveram um baixo nível de herdabilidade para a resposta superovulatória. Da mesma forma, o exame de registros de superovulação de quatro raças de bovinos de leite na Dinamarca mostrou coeficientes de herdabilidade de 0,25 para o total de óvulos e 0,15 para o número de embriões (Liboriussen, 1994). O tamanho do ovário pode desempenhar um papel na resposta superovulatória. Singh et al. (2004) relataram que a resposta superovulatória estava altamente correlacionada com o número de folículos entrando em uma onda folicular. É provável que os animais com números maiores de folículos também tenham ovários maiores.

Há relatos de que a nutrição da doadora afeta a produção e a qualidade do embrião. Novilhas de corte alimentadas ad libitum com concentrado de polpa de cítricos/beterraba produziram número significativamente menor de óvulos e embriões depois da superstimulação do que as novilhas alimentadas com 3 kg do concentrado por dia (Yaakub et al., 1999). A forragem de boa qualidade é o fator nutricional isolado mais importante associado à resposta frente a superstimulação e produção de embriões viáveis em gado de corte. Fêmeas doadoras mantidas em pasto verde, altamente palatável, geralmente têm resposta superovulatória mais alta do que as mantidas em pasto de baixa qualidade, feno ou silagem. Outros fatores nutricionais, como minerais por exemplo, são difíceis de avaliar cientificamente em instalações comerciais. Por outro lado, o controle de condições como a manutenção de números adequados de fêmeas doadoras de linhagens genéticas muito próximas que tenham idade, estágio de lactação e saúde em geral similares, é difícil em instalações de pesquisa. No campo, muitas pessoas que são responsáveis pelo manejo de doadoras estão convencidas da superioridade de seus programas de suplementos e minerais, mas estas opiniões são quase sempre baseadas em observações não quantificadas e não em estudos cientificamente controlados. Em um experimento que avaliou o efeito da suplementação orgânica e inorgânica sobre a resposta superovulatória, as novilhas que receberam minerais orgânicos tenderam a ter mais embriões transferíveis do que as que receberam minerais inorgânicos (Lamb et al., 2008). Contudo, o número de embriões produzidos pelas novilhas do grupo controle foi intermediário e não foi diferente de nenhum dos dois tratamentos.

Não temos conhecimento de dados que demonstrem efeitos locais da fonte de oligominerais sobre a maturação ou a qualidade do ovócito e sobre o desenvolvimento folicular. Há relatos, entretanto, demonstrando que o uso de mineral orgânico tem efeitos variáveis sobre o desempenho reprodutivo de fêmeas de corte. Quando vacas de corte receberam mineral orgânico, foi observado aumento nas taxas de prenhez por inseminação artificial na estação de monta seguinte (Stanton et al., 2000). Além disso, observou-se que vacas jovens tinham maior desempenho reprodutivo depois de receberem mineral orgânico, mas nenhum efeito foi observado em vacas adultas (Arthington e Swenson, 2004). Em porcas, a sobrevivência embrionária e fetal foi melhorada e

a incidência de retorno ao estro foi reduzida quando as porcas recebiam minerais orgânicos. Por outro lado, o uso de Cu suplementar, orgânico ou inorgânico, não melhorou o desempenho reprodutivo (Muehlenbein et al., 2001), e a administração de minerais orgânicos ou inorgânicos em excesso reduziu o desempenho reprodutivo (Olson et al., 1999). Estes relatos conflitantes são paralelos aos resultados observados em nosso estudo anterior (Lamb et al., 2008). Em nosso estudo não houve diferença no número médio de embriões/óvulos recuperados entre os tratamentos Controle, Inorgânico ou Orgânico. Houve diferenças sutis ou tendências para diferenças no número de embriões degenerados, não fertilizados e transferíveis coletados. As novilhas que receberam minerais orgânicos tiveram tendência para número maior de embriões transferíveis do que as novilhas tratadas com inorgânicos, mas o aumento pareceu ser resultado de aumento no número de embriões de qualidade grau 2, mais do que aumento de embriões grau 1. Entretanto, nenhuma diferença foi detectada entre as novilhas tratadas com minerais orgânicos e as do grupo controle. Quando se eliminou as novilhas não respondedoras do conjunto de dados, não foram detectadas diferenças nos embriões transferíveis.

A idade da doadora também é um fator importante, que afeta o número de embriões viáveis coletados de vacas superovuladas (Hasler et al., 1983). Novilhas virgens tendem a produzir menos embriões do que as vacas adultas. As doadoras leiteiras que alcançaram uma idade de aproximadamente 10 anos tendem a ter respostas menores após a superstimulação. Não estão disponíveis dados significativos relacionando a idade à resposta superovulatória em doadoras de corte, mas Stroud e Hasler (2006) indicam que a produção de embriões em vacas de corte com 10 anos ou mais começa a diminuir.

Quando são inexperientes, proprietários e responsáveis pelo manejo de bovinos frequentemente compram vacas doadoras mais velhas, que têm um nome reconhecido ou fenótipos desejáveis e índices altamente precisos, como índice de performance total (IPT) e diferenças esperadas na progênie (DEP). Entretanto, muitas destas doadoras mais velhas são ruins como produtoras de embriões. Por outro lado, criadores e produtores experientes selecionam fêmeas mais jovens, com bons índices genéticos e toda uma vida reprodutiva pela frente como doadoras de embriões.

Inseminação de doadoras

Ainda que ocasionalmente doadoras superestimuladas sejam cobertas naturalmente por um touro do rebanho, a grande maioria das doadoras é inseminada com sêmen congelado-descongelado. Infelizmente, a maioria dos técnicos de IA não tem acesso a um microscópio nem a habilidade de avaliar o sêmen imediatamente depois do descongelamento, antes da inseminação. Além disso, muitos técnicos de IA e produtores pressupõem que o sêmen que descongelaram é altamente fértil e sem modificações desde o dia em que foi congelado em um centro comercial de inseminação artificial. Em um exemplo (Stroud e Hasler, 2006), sêmen enviado diretamente dos centros de IA para o centro de transferência de embriões tinha um nível muito alto de motilidade e morfologia aceitável, e não havia nenhum sêmen com zero de motilidade. Por outro lado, o sêmen entregue ou despachado até o centro de transferência de embriões pela equipe da fazenda ou da granja tinha alta porcentagem de palhetas com espermatozóides mortos ou com viabilidade muito ruim. Estes dados indicam que o sêmen armazenado nos botijões de nitrogênio líquido do proprietário tinha probabilidade maior de ser manipulado inadequadamente, resultando em danos por exposição. Entretanto, há também vários relatos de sêmen de baixa qualidade sendo distribuído por centros comerciais de inseminação artificial (Witt et al., 2001; Nigro et al., 2001; Miller et al., 1982). Como consequência, não se pode pressupor que o sêmen é de alta qualidade, especialmente se os encarregados da transferência de embrião não tiverem experiência com o touro ou as partidas em questão.

O sêmen pode ser danificado pela movimentação inadequada das palhetas entre botijões ou por descongelamento parcial, quando se suspende a cesta alto demais ou por um período de tempo muito longo até a parte superior do botijão de nitrogênio (Saacke et al., 1982). O aquecimento e o resultante dano às palhetas podem ocorrer quando se lê os códigos das palhetas ou se movimenta as palhetas sem usar um frasco Dewar.

O exame do sêmen ao microscópio por profissional experiente antes da inseminação das doadoras para transferência de embrião permite que o inseminador rejeite o sêmen de baixa qualidade ou com espermatozoides mortos. Também dá ao inseminador a oportunidade de avaliar uma série de parâmetros do sêmen que se relacionam com a fertilização de múltiplos óvulos em doadoras superovuladas (Elliot, 1978). Há relação altamente significativa entre a qualidade do sêmen e a porcentagem de óvulos fertilizados e embriões transferíveis nas doadoras superovuladas (Stroud e Hasler, 2008). O mais notável é a relação positiva entre a qualidade do sêmen e a porcentagem de embriões de excelente qualidade. Esta observação dá suporte ao trabalho de DeJarnette et al. (1992), que demonstraram que a qualidade do embrião tinha correlação positiva com o número de espermatozoides acessórios que, por sua vez, tem correlação positiva com a taxa de fertilização.

Além da qualidade do sêmen, o momento da inseminação é importante para a obtenção de resultados consistente na recuperação de embriões das fêmeas superovuladas. O indicador mais confiável de quando inseminar uma doadora superestimulada é a primeira monta durante o estro. Geralmente são obtidas altas taxas de fertilização quando as doadoras de corte superestimuladas são inseminadas uma vez 12–14 h depois da primeira aceitação de monta seguida por uma segunda inseminação 17–24 h depois da primeira monta. Nos casos em que o técnico de IA está limitado a apenas uma unidade de sêmen congelado devido ao custo ou à disponibilidade, recomendamos que as fêmeas sejam inseminadas entre 16 a 20 h depois da primeira monta. As observações dos autores com relação à inseminação de vacas superestimuladas na transferência comercial de embriões têm o suporte de estudos laboratoriais bem controlados (Dalton et al., 2000; Saacke et al., 2000).

O uso de sêmen sexado finalmente chegou ao mercado e tem sido comercializado principalmente para o setor de leite para produzir uma progênie de fêmeas. Durante o processo de separação há menor número de espermatozoides vivos disponíveis para serem embalados e a fertilidade é ligeiramente comprometida, mas a precisão do sêmen selecionado de acordo com o sexo resulta em 85 a 90% da progênie com o sexo desejado. Contudo, os produtores podem esperar taxas de prenhez de 75 a 90% do que se obteria com o sêmen convencional. Por isso, as atuais recomendações são que o sêmen sexado seja usado em novilhas de reposição bem desenvolvidas, com bom manejo, cujo estro tenha sido observado. A inseminação artificial deve ocorrer 12 horas depois do estro observado, usando técnicas adequadas de manipulação de sêmen. Os inseminadores devem estar atentos ao fato de que o sêmen é embalado em palhetas de 0,25 ml ao invés das palhetas convencionais com 0,5 ml. Em um estudo que realizamos (Lamb et al., 2007), demonstramos que a inseminação de vacas doadoras superestimuladas usando sêmen sexado irá resultar em número menor de embriões transferíveis e número maior de óvulos não fertilizados do que em vacas inseminadas com sêmen congelado convencional.

Tabela 1. Características de produção de embriões em vacas Angus superovuladas recebendo sêmen congelado convencionalmente ou sexado (Lamb et al., 2007).

Item ^b	Tratamentos ^a	
	Convencional	Sexado
	embriões, óvulos ou % por flushing	
Total óvulos	10,9 ± 1,8	10,5 ± 1,6
Embriões transferíveis	5,9 ± 1,0	3,8 ± 0,9
Embriões grau 1	4,3 ± 0,8 ^x	2,3 ± 0,7 ^y
Embriões grau 2	1,4 ± 0,3	1,2 ± 0,3
Embriões grau 3	0,2 ± 0,1	0,4 ± 0,1
Óvulos não fertilizados	3,0 ± 1,2 ^x	5,6 ± 1,0 ^y
Embriões degenerados	2,0 ± 0,7	
	0,9 ± 0,6	

^a As doadoras foram inseminadas 1x no início do estro, 2x 12 horas depois do início do estro, e 1x 24 horas depois do início do estro usando sêmen congelado convencionalmente (40×10^6 espermatozoides por inseminação) ou sêmen sexado ($2,1 \times 10^6$ espermatozoides por inseminação).

^b Os embriões foram avaliados quanto ao estágio de desenvolvimento e grau de qualidade de acordo com os padrões estabelecidos pela International Embryo Transfer Society (Savoy, IL).

^{xy} Os valores de uma mesma linha são diferentes ($P < 0,05$).

FATORES ASSOCIADOS COM AS RECEPTORAS

Fatores ligados à transferência de embriões

O procedimento de remover um embrião de seu ambiente uterino natural e, em muitos casos, congelar e descongelar, aumenta o estresse sofrido pelos embriões, resultando em diminuição na taxa de sobrevivência após a transferência. Os nossos achados de diminuição na taxa de prenhez de 83% com embriões frescos ($n = 122$) para 69% com embriões congelados-descongelados ($n = 326$) são similares à diminuição de 10 a 15% nas taxas de prenhez relatadas anteriormente (Leibo, 1986; Sreenen e Diskin, 1987), que é similar à diferença nas médias relatadas pela American Embryo Transfer Association e a International Embryo Transfer Association (Savoy, IL). Os resultados de dois estudos revelam que as taxas de prenhez entre vacas que recebem um embrião fresco de Grau 1 ou de Grau 2 (Hasler, 2001; Spell et al., 2001) não foram diferentes. Relatos anteriores (Wright, 1981; Coleman et al., 1987; Hasler et al., 1987; Schneider et al., 1980) observaram queda na taxa de prenhez a cada queda correspondente no escore de qualidade.

Foi demonstrado que as taxas de prenhez variam com a sincronização entre a doadora e a receptora. Taxas mais elevadas foram observadas quando as receptoras estavam em estro coincidindo com a doadora ou 12 h antes da doadora. As taxas de prenhez diminuíram nas receptoras em estro 12 h depois da doadora (Schneider et al., 1980), mas de acordo com outros relatos, a diminuição só ocorre depois de 24 h (Sreenen e Diskin, 1987; Hasler, 2001; Spell et al., 2001).

A variabilidade nas concentrações de progesterona das receptoras reflete uma combinação de diferentes taxas de desenvolvimento do CL e a flutuação na secreção de progesterona durante o início da fase lútea. Tem sido sugerido que a concentração de progesterona circulante ideal para estabelecer a prenhez está entre 2,0 e 5,0 ng/ml (Niemann et al., 1985). Um estudo recente, entretanto, revelou que o limiar mínimo de concentração de progesterona no dia da transferência de embrião essencial para o estabelecimento e manutenção da gestação pode ser mais baixo do que o anteriormente relatado. Não houve diferenças nas taxas de prenhez quando as concentrações de progesterona chegaram a 0,58 ng/ml ou ultrapassaram 16,0 ng/ml ($n = 448$; Spell et al., 2001). Em um outro estudo, oito de 177 receptoras prenhes tinham concentrações de progesterona $< 0,5$ ng/ml nos dias 10, 11 e 12 do ciclo pós transferência (Hasler et al., 1980). Além disso, o diâmetro e o volume do CL foram diferentes entre as receptoras que receberam embriões do dia 6,5 ao dia 8,5 após o estro (Spell et al., 2001), aumentando na medida em que aumentam o número de dias após o estro. As taxas de prenhez, entretanto, não foram diferentes entre as receptoras que receberam os embriões 6,5 a 8,5 dias após o estro.

A movimentação da receptora enquanto a pipeta de transferência de embrião está no útero aumenta o risco de danos ao endométrio, provocando liberação de $\text{PGF2}\alpha$. As taxas de prenhez estão inversamente correlacionadas com o tempo com a pipeta no útero durante a transferência do embrião (Rowe et al., 1980). Além disso, quando o inibidor da síntese de prostaglandina, flunixin meglumine, foi administrado no momento da transferência do embrião, as taxas de prenhez foram melhoradas mas apenas quando embriões de qualidade inferior eram transferidos (Purcell et al., 2005; Scenna et al., 2005).

Considerações gerais sobre a receptora

A seleção e a identificação de receptoras de alta qualidade não é simples. Muitos preferem utilizar novilhas virgens, enquanto que outros escolhem vacas com histórico conhecido de alta fertilidade. Quando novilhas são usadas como receptoras, o critério de seleção deveria ser o mesmo que para as novilhas de reposição de alta qualidade. As novilhas precisam estar ciclando (o que pode ser avaliado indiretamente usando escores para o trato reprodutivo), em alto plano de nutrição, ter canal pélvico de tamanho adequado, com formato normal, e não ter histórico de ter recebido implantes para crescimento (Patterson et al., 2002).

As receptoras em lactação têm a vantagem de histórico reprodutivo conhecido. Como a saúde do bezerro é dependente da receptora, devem ser mantidos registros sobre a saúde do bezerro e o desempenho ao desmame. As receptoras que são capazes de levar a termo um bezerro de transferência de embrião mas não são capazes de criar um bezerro normal até o desmame devem ser reavaliadas como receptora. Da mesma forma, as vacas vazias com histórico reprodutivo desconhecido precisam ser cuidadosamente examinadas antes de serem incluídas em rebanho ou programa de receptoras (Stroud e Hasler, 2006). O trato reprodutivo precisa ser cuidadosamente examinado por palpação retal ou ultrassonografia transretal para determinar gestação ou anomalias uterinas como fluido ou remanescentes fetais, ou evidência de metrite ou endometrite, e nos ovários devem ser examinadas as estruturas foliculares e luteais, verificando se estão normais. Além disso, as receptoras devem ter bons dentes e olhos, um bom úbere, menos de 8 anos de idade e ser estruturalmente saudável. A fertilidade mais alta ocorre em rebanhos onde as instalações são projetadas para assegurar que o manejo dos animais seja feito com o mínimo de estresse.

É aconselhável manter os animais recém chegados separados do rebanho reprodutivo até que haja tempo suficiente para obter os resultados dos testes diagnósticos de triagem e qualquer doença em incubação tornar-se aparente. Muitos produtores de animais de raça pura e empresas de transferência de embriões coletam amostras de sangue para testar se houve exposição ao vírus da leucose bovina (BLV), *Mycobacterium paratuberculosis* (doença de Johne), diarreia viral dos bovinos (BVD), anaplasmose e *Neospora caninum*. O teste de brucelose ou a vacinação não são mais exigidos em muitas áreas mas é prudente testar os animais de áreas onde a doença está presente em animais silvestres. Muitos dos patógenos mencionados acima foram associados a menor fertilidade por impedirem a fertilização, causarem morte embrionária, perda fetal ou disfunção ovariana (Whittier e Baitis, 2005). O uso de vacinações para controlar doenças dos animais de produção é uma prática comum e comprovada. As recomendações convencionais sugerem que as vacinas com vírus vivo modificado sejam administradas pelo menos 30 dias antes da cobertura. Pesquisas recentes, entretanto, mostraram que em bovinos previamente vacinados não há efeitos prejudiciais se os bovinos forem vacinados no momento do tratamento com PGF2 α ou o tratamento inicial com GnRH (Whittier e Baitis, 2005). Os animais com histórico de vacinação desconhecido ou questionável devem receber vacinações primárias ou de reforço pelo menos três semanas antes da cobertura (Odde, 2006).

Manejo depois da confirmação da prenhez

Uma vez confirmada a prenhez, a receptora precisa receber o manejo adequado para permanecer prenhe. Há vários riscos ambientais que provocam aborto, dependendo da área do país em que a vaca é mantida. Alguns deles incluem *Neospora caninum*, *Astragalus lentiginosus*, pinheiro vermelho (*Pinus ponderosa*), intoxicação por festuca, nitratos e micotoxinas e/ou ração mofada. Foi demonstrado que o estresse provocado pela lida com os animais pode levar as novilhas a abortar (Merrill et al., 2007), mas não há dados confiáveis que enfoquem o intervalo ideal para transportar as receptoras depois da transferência do embrião. As taxas de prenhez, entretanto, foram mais baixas em receptoras que foram transportadas entre 8 e 33 dias após a IA do que naquelas que tinham sido transportadas dentro dos primeiros 4 dias (Harrington et al., 1995). Por isso, parece ser mais desejável transportar as receptoras antes da eclosão do embrião do que depois da eclosão. Agentes infecciosos, como da diarreia viral dos bovinos (BVD), da rinotraqueíte infecciosa dos bovinos

(IBR) e, raramente, o vírus da língua azul, também são uma ameaça para o feto em desenvolvimento. Muitas vezes não é possível diagnosticar a causa dos abortos, mas o sucesso diagnóstico pode ser maior se amostras adequadas forem coletadas bem como o histórico for obtido (Mickelson et al., 1994).

Biossegurança

É preciso instituir um programa de biossegurança bem delineado para proteger o rebanho contra a introdução de doenças infecciosas que poderiam causar aborto ou reduzir o valor dos bezerros. Isto inclui um programa de testes e de quarentena para todos os novos animais trazidos para o rebanho. Um programa baseado em bom senso com agulhas descartadas após um único uso e luvas para palpação retal, equipamento de desinfecção entre as vacas (aplicadores, alicates de tatuagem e outros instrumentos), controle de ectoparasitas, uso de macacões limpos pelos funcionários e visitantes, bem como pedilúvios ou propé. Também não se deve permitir que equipamentos ou peças de vestuário sejam levados de uma propriedade a outra sem que sejam cuidadosamente lavadas e desinfetadas. Todas estas medidas podem minimizar o risco de introduzir patógenos nas instalações.

Diagnóstico de prenhez

Saber quando as vacas conceberam e quando irão parir ajuda a concentrar a supervisão do parto. A ultrassonografia pode ajudar a determinar com exatidão a presença de um conceito já no dia 28, mas é recomendado que todas as vacas sejam novamente verificadas depois de 45 dias para confirmar a prenhez (Lamb, 2001). Com o uso da ultrassonografia e das datas de cobertura para determinar a data estimada da parição, as vacas podem ser separadas em grupos de parição e submetidas a manejo para reduzir ração, mão de obra e despesas veterinárias. As vacinações pré-parição também podem ser programadas de forma a assegurar a resposta mais eficaz. Além disso, foi demonstrado que evitar a superlotação do pasto de parição e/ou de vacas que vão parir em pastos ‘frescos’, que ainda não receberam vacas com bezerros, reduz a morbidade e a mortalidade causadas por diarreias infecciosas dos bezerros (Jones e Lamb, 2007).

Conclusão

Para assegurar o sucesso de um programa de transferência de embriões é necessário que numerosos fatores estejam implementados. Nutrição, controle do ciclo estral e manejo da receptora são responsáveis pelo sucesso ou pelo fracasso do programa. Produtores, embriologistas, veterinários e todos os membros da equipe de manejo da receptora precisam estar atentos aos fatores de curto e de longo prazo que contribuem para que as receptoras concebam até a transferência do embrião, mantendo o embrião/feto a termo, parindo o bezerro sem assistência, criando e desmamando um bezerro saudável.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arthington, J.D., C.K. Swenson. 2004. Effects of trace mineral source and feeding method on the productivity of grazing Braford cows. *Prof. Anim. Sci.* 20:155-161.
- 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.
- Dalton, J.C., S. Nadir, J.H. Bame, M. Noftsinger, R.L. Nebel and R.G. Saacke, 2000. The effect of artificial insemination on fertilization status and embryo quality in superovulated cattle, *J. Anim. Sci.* 78:2081–2085.

- DeJarnette, J.M., R.G. Saacke, J.H. Bame and C.J. Vogler, 1992. Accessory sperm: their importance to fertility and embryo quality, and attempts to alter their numbers in artificially inseminated cattle, *J. Anim. Sci.* 70:484–491.
- Elliott, F.I. 1978. Semen evaluation. In: G.W. Salisbury, N.L. VanDemark and J.R. Lodge, Editors, *Physiology of reproduction and artificial insemination of cattle*, W.H. Freeman and Co. pp. 400–427.
- Diskin, M.G., and J.M. Sreenan, 1980. Fertilization and embryonic mortality rates in beef heifers after artificial insemination, *J. Reprod. Fertil.* 59:463–468.
- Harrington, T.E., M.E. King, H.E. Mihura, D.G. LeFever, R. Hill, K.G. Odde. 1995. Effect of transportation time on pregnancy rates of synchronized yearling beef heifers. 1995 Beef Program Report, Colorado State University April:81-86.
- Hasler, J.F. 1992. Current status and potential of embryo transfer and reproductive technology in dairy cattle, *J. Dairy Sci.* 75:2857–2879.
- Hasler, J.F. 2001. Factors affecting frozen and fresh embryo transfer pregnancy rates in cattle. *Theriogenology*. 56:1401-1415.
- 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.* 58:71-77.
- 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.
- Hasler, J.F., A.D. McCauley, E.C. Schermerhorn, and R.H. Foote, Superovulatory responses of Holstein cows, *Theriogenology* 19:83–99.
- Hawk, H.W., and T.Y. Tanabe. 1986. Effect of unilateral corneal insemination upon fertilization rate in superovulating and single-ovulating cattle, *J. Anim. Sci.* 63:551–560.
- 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.
- Jones, A.L., and G.C. Lamb. 2007. Nutrition, synchronization, and management of embryo transfer recipients. *Theriogenology* 69:107-115.
- Lamb, G.C. 2001. Reproductive Real-Time Ultrasound Technology: An Application for Improving Calf Crop in Cattle Operations. In: *Factors Affecting Calf Crop: Biotechnology of Reproduction*. Ed. M.J. Fields. pp 235-253. CRC Press LLC. FL.
- Lamb, G.C., D.R. Brown, J.E. Larson, C.R. Dahlen, N. DiLorenzo, J.D. Arthington, and A. DiCostanzo. 2008. Effect of organic or inorganic trace mineral supplementation on follicular response, ovulation, and embryo production in superovulated angus heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 106:221-231.
- Lamb, G.C., B.J. Lovaas, S.L. Bird, A. Martins, J.E. Larson, J.C. Rodgers, D.J. Frank, D.M. Williams. 2007. Artificial insemination of superovulated Angus cows using sexed or conventionally frozen semen. *J. Anim. Sci.* 85 (Suppl. 1):322.
- Leibo, S.P. 1986. Commercial production of pregnancies from one-step diluted frozen-thawed bovine embryos. *Theriogenology* 25:166(Abstr.).
- Liboriussen, T. 1994. Genetic variation in response to superovulation in cattle, *Proceedings of the 5th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, 19:234–236.
- 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.

- Marciel, M., H. Rodriguez-Martinez, and H. Gustafsson. Fine structure of corpora lutea in superovulated heifers. *Zentralbl. Veterinärmed.* 39:89-97.
- Merrill, M.L., R.P. Ansotegui, P.D. Burns, M.D. Macneil, T.W. Geary. 2007. Effects of flunixin meglumine and transportation on establishment of pregnancy in beef cows. *J. Anim. Sci.* 85:1547-1554.
- Miller, D.M., F. Hrudka, W.F. Cates, and R.J. Mapletoft. 1982. Infertility in a bull with a nuclear sperm defect: a case report, *Theriogenology* 17:611-621.
- Muehlenbein, E.L., D.R. Brink, G.H. Deutcher, M.P. Carlson, A.B. Johnson. 2001. Effects of inorganic and organic copper supplemented to first-calf cows on cow reproduction and calf health and performance. *J. Anim. Sci.* 79:1650-1659.
- 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.
- Nigro, M., E. Burry, G.F. Witt, L. Cutaia, and G.A. Bo. 2001. Importancia de la evaluacion de la calidad del semen congelado en un programa de produccion de embriones, *Proceedings of the Cuarto Simposio Internacional de Reproducción Animal* p. 276(Abstr.).
- Odde, K.G. 2006. Timing of vaccination in estrus synchronization systems. In: *Proc. 6th Applied reproductive strategies in beef cattle*. St. Joseph, MO. pp 311-313.
- Olson, P.A., D.R. Brink, D.T. Hickok, M.P. Carlson, N.R. Schneider, G.H. Deutscher, D.C. Adams, D.J. Colburn, and A.B. Johnson. 1999. Effects of supplementation of organic and inorganic combinations of copper, cobalt, manganese, and zinc above nutrient requirement levels on postpartum two-year-old cows. *J. Anim. Sci.* 77:522-532.
- Patterson, D.J., S.L. Wood, R.F. Randle. 2002. Procedures that support reproductive management of replacement beef heifers. *Proceedings of the Amer Sociaty of Anim Sci.* <http://www.asas.org/JAS/symposia/proceedings/0902.pdf>
- 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.
- Pettit, W.H. Jr. 1985. Commercial freezing of bovine embryos in glass ampules. *Theriogenology*. 23:13-16.
- Purcell, S.H., W.E. Beal, K.R. Gray. 2005. Effect of a CIDR insert and flunixin meglumine, administered at the time of embryo transfer, on pregnancy rate and resynchronization of estrus in beef cattle. *Theriogenology*. 64:867-878.
- Romero, J., J. Albert, Z. Brink and G.E. Seidel. 1991. Numbers of small follicles in ovaries affect superovulation response in cattle, *Theriogenology* 35:265(Abstr.).
- Rowe, R.F., M.R. Del Campo, J.K. Crister, O.J. Ginther. 1980. Embryo transfer in cattle: nonsurgical transfer. *Am. J. Vet. Res.* 41:1024-8.
- Saacke, R.G., J.C. Dalton, S. Nadir, R.L. Nebel and J.H. Bame. 2000. Relationship of seminal traits and insemination time to fertilization rate and embryo quality. *Anim. Reprod. Sci.* 6061:663-677.
- Saacke, R.G., J.A. Lineweaver, and E.P. Aalseth. 1978. Procedures for handling semen, *Proceedings of the 12th Conference on Artificial Insemination in Beef Cattle*, Sponsored by the NAAB, pp. 46-61.
- Scenna, F.N., M.E. Hockett, T.M. Towns, A.M. Saxton, N.R. Rohrbach, M.E. Wehrman, F.N. Schrick. 2005. Influence of a prostaglandin synthesis inhibitor administered at embryo transfer on pregnancy rates of recipient cows. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 78:38-45.

- 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., M. Dominguez, R. Jaiswal and G.P. Adams, 2004. A simple ultrasound test to predict the superstimulatory response in cattle, *Theriogenology* 62:227-243.
- 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.
- Sreenan, J.M. and M.G. Diskin. 1987. Factors affecting pregnancy rate following embryo transfer in the cow. *Theriogenology* 27:99-113.
- Stanton, T.L., J.C. Whittier, T.W. Geary, C.V. Kimberling, A.B. Johnson. 2000. Effects of trace mineral supplementation on cow-calf performance, reproduction, and immune function. *Prof. Anim. Sci.* 16:121-127.
- Thibier, M. 2004. Stabilization of numbers of in vivo collected embryos in cattle but significant increases of in vitro bovine produced embryos in some parts of the world: a report from the IETS data retrieval committee. *Int. Embryo Transfer Soc. Newslett.*, pp. 12-19.
- Tonhati, H., R.B. Lôbo, and H.N. Oliveria. 1999. Repeatability and heritability of response to superovulation in Holstein cows. *Theriogenology* 51:1151-1156.
- Whittier, W.D., and H.K. Baitis. 2005. Timing of vaccinations in estrous synchronization programs. In: *Proc. 4th Applied reproductive strategies in beef cattle*. Lexington KY. Pp. 147-156.
- Witt, A.C., G.F. Witt, and F.G. Witt. 2001. Relacion entre calidad embrionaria y dos cuadros espermaticos de un mismo toro, *Proceedings of the Cuarto Simposio Internacional de Reproduccion Animal Huerta Grande, Cordoba, Argentina*. p. 271(Abstr.).
- Wright, J.M. 1981. Non-surgical embryo transfer in cattle, embryo-recipient interaction. *Theriogenology* 15:43-56.
- Yaakub, H., D. O'Callaghan, and M.P. Boland. 1999. Effect of type and quantity of concentrates on superovulation and embryo yield in beef heifers, *Theriogenology* 51:1259-1266.