

EMANUEL VALERIO MAMEDIO DE OLIVEIRA

**TAXA DE CONCEPÇÃO DE EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS IN VITRO  
TRANSFERIDOS A FRESCO OU VITRIFICADOS - LEVANTAMENTO DE DADOS**

Ji-Paraná-RO

2025

EMANUEL VALERIO MAMEDIO DE OLIVEIRA

**TAXA DE CONCEPÇÃO DE EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS IN VITRO  
TRANSFERIDOS A FRESCO OU VITRIFICADOS - LEVANTAMENTO DE DADOS**

Monografia apresentada ao Centro Universitário  
São Lucas Ji-Paraná, para obtenção de grau na  
disciplina Trabalho de Conclusão de Curso em  
Medicina Veterinária.

Professora orientadora: Josiane Clarindo de Freitas

Ji-Paraná-RO

2025

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação - CIP**

O48t Oliveira, Emanuel Valerio Mamedio de.

Taxa de concepção de embriões bovinos produzidos in vitro transferidos a fresco ou vitrificados - levantamento de dados. / Emanuel Valerio Mamedio de Oliveira. – Ji-Paraná, 2025.  
13 p.; il.

Monografia (Curso de Medicina Veterinária) – Centro Universitário São Lucas Ji-Paraná, 2025.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Me. Josiane Clarindo de Freitas.

1. PIVE. 2. Embriões. 3. Fertilidade. 4. In vitro. 5. Prenhez. I. Freitas, Josiane Clarindo de. II. Título.

CDU 619:636.082.4

## TAXA DE CONCEPÇÃO DE EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS *IN VITRO* TRANFERIDOS À FRESCO OU VITRIFICADOS - LEVANTAMENTO DE DADOS.

Conception rate of bovine embryos produced in vitrotransferred fresh or vitrified - data collection.

Emanuel Valerio Mamedio de OLIVEIRA<sup>1</sup>, Josiane Clarindo de FREITAS<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Discente do curso de Medicina Veterinária – Centro Universitário São Lucas – AFYA, *Campus Ji-Paraná* – RO. E-mail: [emanuelmamedio99@gmail.com](mailto:emanuelmamedio99@gmail.com)

<sup>2</sup> Docente do curso de Medicina Veterinária – Centro Universitário São Lucas – AFYA, *Campus Ji-Paraná* – RO.

---

### Resumo

A biotecnologia da produção *in vitro* de embriões (PIVE) bovinos é uma ferramenta importante para o melhoramento genético e aumento da eficiência reprodutiva dos rebanhos. Este estudo teve como objetivo avaliar a taxa de concepção de embriões bovinos produzidos *in vitro*, comparando-se embriões transferidos a fresco com vitrificados. Foram analisados 3.380 embriões transferidos em receptoras F1 Angus, sendo 2.937 embriões a fresco e 443 vitrificados. Os resultados mostraram uma taxa de concepção de 54,20% para embriões frescos e 45,15% para vitrificados. Houve também variação conforme a categoria das receptoras: novilhas apresentaram maiores taxas de concepção (55,48% a fresco e 52,99% vitrificados) em comparação com vacas (53,77% a fresco e 42,20% vitrificados). O estudo destaca a influência de fatores como categoria animal, condição corporal, ambiente uterino, estresse térmico e manejo nutricional sobre a eficiência da PIVE. Conclui-se que, embora embriões frescos apresentem maiores taxas de concepção, a vitrificação continua sendo uma alternativa viável e estratégica, especialmente quando há limitação no número de receptoras disponíveis.

**Palavras-chave:** PIVE. Embriões. Fertilidade. *In vitro*. Prenhez.

### Abstract

The biotechnology of *in vitro* production of bovine embryos (IVP) is an important tool for genetic improvement and increasing reproductive efficiency in cattle herds. This study aimed to evaluate the conception rate of *in vitro*-produced bovine embryos, comparing fresh and vitrified embryo transfers. A total of 3,380 embryos were transferred into F1 Angus recipient females, with 2,937 fresh and 443 vitrified embryos. The results showed a conception rate of 54.20% for fresh embryos and 45.15% for vitrified ones. Differences were also observed based on the recipient category: heifers showed higher conception rates (55.48% fresh and 52.99% vitrified) compared to cows (53.77% fresh and 42.20% vitrified). The study highlights the influence of factors such as animal category, body condition, uterine environment, heat stress, and nutritional management on the efficiency of IVP. It is concluded that although fresh embryos result in higher conception rates, vitrification remains a viable and strategic alternative, particularly when the number of available recipients is limited.

**Keywords:** IVEP, Embryos, Fertility, *In vitro*, Pregnancy.

---

## Introdução

Na pecuária atual, é essencial adotar estratégias eficazes para monitorar e melhorar os indicadores reprodutivos, como a taxa de prenhez, índice de serviço, intervalo entre partos e taxa de natalidade (NOGUEIRA, 2013). Foi na década de 1980 que surgiram os primeiros registros do uso da maturação e fecundação *in vitro* (MIV e FIV) em oócitos bovinos. Em 1982, ocorreu o nascimento do primeiro bezerro produzido por FIV nos Estados Unidos, resultado de estudos iniciais realizados com animais de laboratório (BRACKETT et al., 1982). Desde então, a produção *in vitro* de embriões (PIVE) em bovinos passou por um avanço significativo, demonstrando que todo o processo pode ser conduzido sob condições artificiais, envolvendo a maturação dos oócitos, sua fecundação e o subsequente desenvolvimento embrionário (GONÇALVES et al., 2008; VARAGO et al., 2008; MELLO, 2016).

A fertilidade do rebanho é um componente chave para a produtividade das vacas de corte, influenciada por fatores como manejo nutricional, saúde, ambiente e características individuais (BARBOSA et al., 2010). Nesse contexto, a PIVE tornou-se uma ferramenta estratégica para o melhoramento genético, amplamente utilizada no Brasil e em outros países, permitindo a rápida multiplicação de animais superiores. O foco principal da técnica é gerar embriões viáveis a partir de doadoras, independentemente da sua capacidade reprodutiva natural, para obtenção de descendentes por técnicas convencionais.

Uma das grandes vantagens da PIVE é permitir que uma mesma fêmea doadora produza vários descendentes ao longo do ano por meio de repetidas coletas de oócitos, enquanto, de forma natural, a produção seria limitada a um bezerro por ano. Contudo, existem desafios associados à técnica, como o investimento inicial elevado, necessidade de mão de obra especializada e equipamentos específicos. Além disso, o uso inadequado pode favorecer a propagação de genes indesejáveis, além de aumentar o risco de lesões e infecções no sistema reprodutivo da fêmea, com possíveis consequências sanitárias para o rebanho (CARNEIRO et al., 2023).

O processo de PIVE compreende várias etapas, desde a coleta dos oócitos, que são encaminhados ao laboratório, até as fases de maturação *in vitro*, fecundação e cultivo dos embriões. Essa técnica permite que fêmeas com alto valor genético contribuam de forma mais expressiva na produção de crias, resultando em descendentes com potencial genético superior (SALVADOR, 2019).

De forma resumida, o procedimento envolve a obtenção dos oócitos (células sexuais femininas), sua maturação em laboratório (MIV), fecundação com espermatozoides (FIV),

cultivo dos embriões (CIV) e posterior transferência para uma receptora. Existem duas formas principais de obtenção dos oócitos: a coleta post-mortem, realizada em ovários de animais abatidos; e a coleta in vivo, que utiliza a aspiração folicular transvaginal guiada por ultrassom (OPU). Esta última é especialmente valiosa quando aplicada em matrizes de alto valor genético (VARAGO et al., 2008; MARQUES et al., 2024).

A OPU é realizada com auxílio de um equipamento de ultrassonografia e uma sonda com guia para aspiração, onde uma agulha acoplada permite puncionar os folículos ovarianos visíveis no exame (STROEBECH et al., 2015). Com isso, é possível recuperar o conteúdo de múltiplos folículos em uma única sessão, superando os resultados da produção in vivo em termos de bezerros por vaca ao ano (GOODHAND et al., 1997; MARQUES et al., 2024).

A criopreservação é outro recurso valioso na reprodução assistida, facilitando o armazenamento, transporte de embriões e promovendo o comércio de genética bovina em nível internacional. Seu sucesso depende de fatores como o tipo e concentração dos crioprotetores, além da forma como os embriões são resfriados e reaquecidos, considerando ainda o estágio embrionário (SHIRAZI et al., 2009). As técnicas mais utilizadas são a vitrificação e a congelamento, que diferem principalmente na velocidade de resfriamento e nas concentrações dos crioprotetores (VAJTA; KUWAYAMA, 2006). A vitrificação impede a formação de cristais de gelo, preservando melhor a integridade celular (MASSIP, 2001). No entanto, as altas concentrações de crioprotetores podem ser tóxicas, sendo necessário empregar substâncias com diferentes propriedades de permeabilidade para reduzir esses efeitos (VAJTA, 2000; VAJTA e KUWAYAMA, 2006).

A taxa de concepção após a transferência embrionária depende de vários fatores: como o tipo de receptora, novilhas tendem a apresentar melhores resultados do que vacas (HASLER, 2001); os níveis de progesterona no momento da transferência (REMSSEN; RUSSEL, 1982); a qualidade dos embriões; do corpo lúteo e a sincronia entre o ciclo da receptora e o estágio embrionário (ANDRADE et al., 2012). A utilização de protocolos de sincronização para inseminação e transferência de embriões em tempo fixo ajuda a minimizar falhas e melhora a eficiência do procedimento (BARUSELLI et al., 2000).

Nos programas de PIVE, é necessário contar com um maior número de receptoras sincronizadas, especialmente para embriões frescos (SIQUEIRA et al., 2009). Por isso, a criopreservação torna-se uma alternativa viável para ajustar a oferta de embriões ao número de receptoras disponíveis. A escolha de fêmeas receptoras geralmente se baseia em critérios como a presença de corpo lúteo ou desenvolvimento folicular adequado, indicadores de ciclicidade ovariana, além da resposta a protocolos hormonais de sincronização (BARIONI et al., 2007).

Utilizar receptoras do próprio rebanho pode ajudar a reduzir os custos de produção, desde que o número de animais esteja bem planejado. Caso contrário, torna-se necessária a criopreservação dos embriões para futuras transferências (PHILLIPS e JAHNKE, 2016; DANTAS et al., 2018).

A seleção de doadoras também é um ponto estratégico, pois influencia diretamente o sucesso do programa. Fêmeas com genética superior promovem a rápida disseminação de características desejáveis e aumentam a eficiência da seleção animal (FONSECA, 2005; PAULA, TEIXEIRA, PORFIRIO, 2020). Quanto mais jovens forem as doadoras, maior tende a ser o impacto positivo nos resultados obtidos (BARUSELLI et al., 2016).

Além disso, é fundamental compreender a relação entre nutrição e reprodução. O organismo prioriza a destinação de nutrientes para funções vitais, e só os redireciona à atividade reprodutiva quando essas necessidades estão supridas (SANT et al., 2018). Assim, fêmeas com baixo escore de condição corporal apresentam alterações hormonais que prejudicam a fertilidade, principalmente em programas de transferência de embriões (VALENTIM et al., 2019).

Com base em todas essas considerações sobre a PIVE, o presente levantamento de dados tem como objetivo, avaliar a taxa de concepção de embriões bovinos produzidos in vitro e transferidos a fresco ou vitrificados.

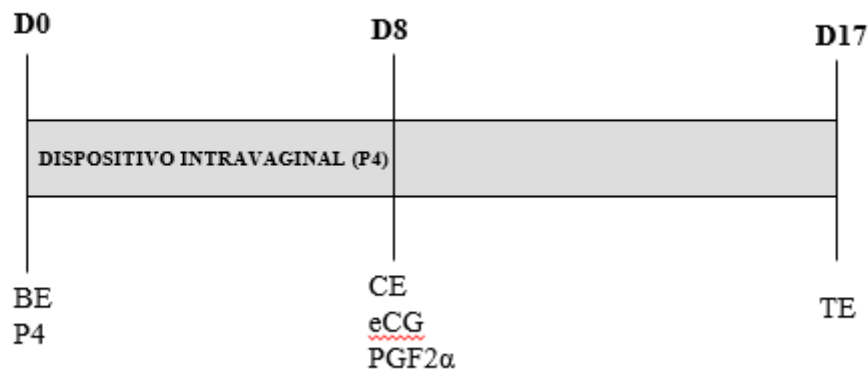
## **Metodologia**

O trabalho foi realizado com 3.380 embriões bovinos, sendo 2.937 à fresco e 443 vitrificados, transferidos em uma fazenda situada no município de Cáceres no Estado de Mato Grosso. Essa região apresenta clima, segundo a classificação de Köppen, do tipo Awa, caracterizado como tropical quente e úmido, com inverno seco, com temperatura média anual entre 21°C e máxima de 32°C.

As fêmeas doadoras eram das raças Nelore, Sind e Gir e as receptoras da raça F1 Angus, recebiam manejo nutricional (forrageira- e suplementação mineral de acordo com a categoria animal) e manejo sanitário antes de entrarem na estação reprodutiva.

As fêmeas receptoras foram submetidas a estação de monta entre os meses setembro de 2023 a abril de 2024 a um protocolo hormonal convencional para sincronização do estro, as mesmas apresentavam escore de condição corporal adequado, trato reprodutivos em boas condições para a inovulação, e após os exames ginecológicos foram submetidas ao protocolo de indução de cio para TETF.

No dia 0, administrou-se 2 mg de benzoato de estradiol (BE) intramuscular, juntamente com a inserção de um dispositivo intravaginal contendo 0,5 g de progesterona (P4). No dia 8, procedeu-se à retirada do dispositivo intravaginal de P4, seguida da administração de 1 mg de cipionato de estradiol (CE), 300 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG) e 0,526 mg de cloprostenol (PGF2 $\alpha$ ). No dia 17 do protocolo, as receptoras foram submetidas à anestesia epidural com 40 mg de lidocaína a 2%, seguida de avaliação ultrassonográfica para identificação do ovário que apresentou ovulação e avaliação da qualidade do corpo lúteo (CL), avaliado de 1 a 3 de acordo com o tamanho e porcentagem de vascularização. Imediatamente após essa avaliação, foi realizada a inovulação embrionária transferência de embrião (TE). Nos casos em que foram utilizados embriões a fresco foram tirados do meio de cultivo e envasados e os vitrificados foram previamente submetidos ao processo de desvitrificação e em seguida envasados. O diagnóstico de gestação foi realizado 23 dias após a TE, por meio de exame ultrassonográfico transretal.



**Figura 1:** Protocolo de sincronização de ciclicidade. **Fonte:** OLIVEIRA, 2025.

## Resultados

Os resultados encontrados nesse levantamento de dados com relação a taxa de concepção de embriões a fresco e vitrificados estão descritos na **tabela 1**.

**TABELA 1:**

<b>Tipo</b>	<b>Quantidade</b>	<b>DG positivo</b>	<b>% concepção</b>
<b>Embriões a fresco</b>	2937	1592	54,20
<b>Embriões vitrificados</b>	443	200	45,15
<b>Total</b>	3.380	1792	53,01

**Fonte:** ReproduçãoMT, 2024.

### **Discussão**

Neste contexto, foram utilizadas novilhas e vacas da raça F1 angus como receptoras de embriões produzidos in vitro após OPU de vacas Nelore, Sindi e Gir de alto mérito genético. Do total de embriões transferidos 2.937 foram à fresco, e 443 vitrificados.

A taxa de concepção obtida no estudo para embriões transferidos a frescos foi 54,20% e vitrificados 45,15% sendo receptoras novilhas e vacas, com uma média geral sem separação de categoria com taxa de concepção de 53,01%. Semelhante a um trabalho feito por Ambrozini (2020), que obteve taxa de concepção utilizando embriões frescos (51,42%) e vitrificados (49,72%), mostrando pouca diferença entre os mesmos. Com concepção média de 50,63% (2537/4987), independente da categoria animal e embrião transferido.

Ao analisar separadamente este levantamento de dados, foi possível notar uma diferença nas taxas de concepções entre novilhas (55,48% frescos e 52,99% vitrificados) e vacas (53,77% à fresco e 42,20% vitrificados), mostrando que as categorias de animais podem influenciar na taxa de concepção. Assim como observado em trabalhos feito por Borges Filho (2018), onde realizou a sincronização de novilhas e vacas para serem utilizadas como receptoras de embriões produzidos in vitro após OPU de fêmeas de alto mérito genético, e avaliou a taxa de concepção mostrando diferença entre as categorias de animais utilizados, obtendo resultados de taxa de concepção nas novilhas de 23,02% e vacas 31,06%, sendo que rotineiramente as novilhas apresentam melhores resultados de concepção do que as vacas. Já em estudo apresentado por Trigal et al. (2012) trabalhando com novilhas cruzadas (Bos taurus x Bos indicus) obteve uma taxa de concepção de 52,80%.

Segundo LOBATO et al. (2019), observou também a taxa de concepção (TC) de acordo com a estação do ano sendo no inverno 40,42% e verão 33,22%, na qual demonstrou

diferença nos valores em todas as variáveis apresentadas. Corroborando com o levantamento exposto onde, a estação reprodutiva aconteceu no período do inverno, obtendo 53,01% de TC.

Para que a concepção ocorra de forma eficaz, o animal necessita de um ambiente fisiológico favorável, o qual pode ser influenciado por diversos fatores, dentre os quais se destacam as variações térmicas. O estresse térmico, desencadeado por temperaturas ambientais elevadas, promove alterações hemodinâmicas sistêmicas com o objetivo de manter a homeostase, resultando na redistribuição do fluxo sanguíneo e consequente redução da irrigação uterina. Essa condição compromete a funcionalidade do útero, interferindo negativamente a receptividade endometrial e nos índices de fertilidade. Pode-se citar a diminuição na secreção de LH, que pode resultar em CL de baixa funcionalidade e, conseqüentemente, gerar concentrações inferiores de progesterona, sendo um grande impasse na TxC, PINTO (2023).

Costa e Silva et al. (2010) avaliaram a taxa de gestação em receptoras cruzadas zebuínas/taurinas submetidas a condição tropical, nos meses de fevereiro e março, fertilizadas com embriões provenientes de fêmeas Nelore, concluindo que a condição tropical influenciou negativamente a fertilidade das receptoras, relacionando a menor concentração plasmática de progesterona no momento da inovulação, além do aumento da temperatura corporal.

As taxas podem ser afetadas também quando há situações de baixa oferta de alimentos de pior qualidade, fazendo com que as receptoras possuam menores reservas de energia, afetando a atividade estral e concepção, bem como priorizando outras funções do metabolismo basal, crescimento e lactação.

Para se obter bons resultados na produção in vitro de embriões (PIVE), é fundamental que a inovulação do embrião seja realizada em receptoras com corpo lúteo de qualidade, além de haver sincronia entre o estágio de desenvolvimento embrionário e as condições uterinas da receptora. É necessário identificar as diferenças individuais e entre raças, bem como utilizar embriões de alta qualidade. Variações nas condições climáticas e na disponibilidade de alimentos, influenciadas pelas estações do ano, também devem ser consideradas, exigindo manejo adequado para não comprometer o ciclo reprodutivo das fêmeas, evitando perdas gestacionais e o aumento do custo de produção. Ressalta-se, ainda, a importância dos cuidados com a higiene e a manipulação dos embriões, da biossegurança e da esterilidade dos meios utilizados no cultivo de oócitos e embriões, a fim de garantir bons resultados (PINTO, 2023).

## **Conclusão**

A comparação entre embriões bovinos produzidos in vitro e transferidos a fresco ou vitrificados demonstrou que os embriões frescos apresentam maior taxa de concepção. No entanto, a vitrificação se mostrou uma alternativa viável quando há limitação de receptoras. Fatores como categoria animal, manejo, clima e qualidade embrionária influenciam diretamente os resultados. Portanto, o sucesso da PIVE depende da escolha criteriosa das receptoras, do rigor nos protocolos e do bom manejo reprodutivo e sanitário do rebanho.

## Referências bibliográficas

Ambrozini, Bruno. **Taxas de concepção e perda gestacional de novilhas e vacas Girolando após transferência em tempo fixo de embriões frescos ou vitrificados / Bruno Ambrozini.** - Londrina, 2020. 49 f.: il.

ANDRADE, G. A.; FERNANDES, M. A.; KNYCHALA, R. M.; PEREIRA JUNIOR, M. V.; OLIVEIRA, A. J.; NUNES, D. P.; BONATO, G. L.; SANTOS, R. M. **Fatores que afetam a taxa de prenhe de receptoras de embriões bovinos produzidos in vitro. Revista Brasileira de Reprodução Animal, Belo Horizonte, v. 36, n. 1, p. 66-69, 2012.**

BARBOSA, R. T. et al. **Manejo e fatores determinantes na fertilidade de vacas de corte.** Revista Brasileira de Reprodução Animal, 2010.

BARUSELLI, P. S., CATUSSI, B. L. C., DE ABREU, L. Â., ELLIFF, F. M., DASILVA, L. G., BATISTA, E. S., CREPALDI, G. A. **Evolução e perspectivas da inseminação artificial em bovinos.** Rev. Bras. Reprod. Anim, v. 43, n.2, p. 308- 314. 2020.

BARUSELLI, P. S.; BATISTA, E. O. S.; VIEIRA, L. M.; FERREIRA, R. M.; GUERREIRO, B. G.; BAYEUX, B. M.; SALES, J. N. S. **Factors that interfere with oocyte quality for in vitro production of cattle embryos: effects of different developmental & reproductive stages.** Anim. Reprod., v. 13, n. 3, p. 264-272, jul-set, 2016.

BARIONI, L.G.; TRAVASSOS BELTRAME, R.; QUIRINO, C.R.; RANKEL FERNANDES, D.. **Modelos determinista e estocástico em programas de transferência de embriões em bovinos.** Archivos Latino americanos de Producción Animal, v.15, n.3, p.111- 117, 2007.

Brackett RG, Bousquet D, Boice ML, Donawick WJ, Evans Dressel MA. **Normal development following in vitro fertilization in the cow.** Biol Reprod, v.27, p.147-158, 1982.

CARNEIRO, et al. **Riscos sanitários associados à PIVE.** 2023.

COSTA e SILVA, E. V. da. e et al. **Efeito do manejo e de variáveis bioclimáticas sobre a taxa de gestação em vacas receptoras de embriões.** Ciência Animal Brasileira, Goiânia, v.11,

n.2, p.280-291, 2010.

GONÇALVES, P.B.D., OLIVEIRA, M.A.L., MEZZALIRA, A., MONTAGNER, M.M., VISINTIN, J.A., COSTA, L.F.S. **Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal**. 2nd. Ed. 2008. São Paulo, Rocca, p. 261- 291.

GOODHAND, K. L., Watt, R. G., Staines, M. E., Hutchinson, J. S. M. **In vivo oocyte recovery and in vitro embryo production from bovine donors**. *Theriogenology*, 51:951–961, 1997.

HASLER, J. F. **Factors affecting frozen and fresh embryo transfer pregnancy rates in cattle**. *Theriogenology*, v. 56, p. 1401-1415, 2001.

NOGUEIRA, M. F. G. **Indicadores reprodutivos na pecuária**. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 2013.

PINTO, ANA PAULA VIEIRA. **Fatores que influenciam a taxa de concepção de embriões bovinos produzidos in vitro**. Botucatu. 2023. 20p.

PYLES, E. S. C. S. **Criopreservação de embriões bovinos**. 2003 Monografia (Disciplina “Seminários II”) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2003

STROEBECH, L.; MAZZONE, G.; PEDERSEN, H. S.; FREUDE, K. K.; KADARMIDEEN, H. N.; CALLESEN, H.; HYTTEL, P. **In vitro production of bovine embryos: revisiting oocyte development and application of systems biology**. *Anais... Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões*, Gramado- RS, v. 29, p. 148-156. 2015.

SHIRAZI, A. et al. **Effect of culture system on survival rate of vitrified bovine embryos produced in vitro**. *Cryobiology*, v. 59, n. 3, p. 285-290, 2009.

SIQUEIRA, L. G. B.; TORRES, C. A. A.; SOUZA, E. D.; MONTEIRO JR., P. L. J.; ARASHIRO, E. K. N.; CAMARGO, L. S. A.; FERNANDES, C. A. C.; VIANA, J. H. M. **Pregnancy rates and corpus luteum-related factors affecting pregnancy establishment in bovine recipients synchronized for fixed-time embryo transfer**. *Theriogenology*, v. 72, p.

949-958, 2009.

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

TRIGAL, B.; GÓMEZ, E.; CAAMAÑO, J. N.; MUÑOZ, M.; MORENO, J.; CARROCERA, S.; MARTÍN, D.; DIEZ, C. **In vitro and in vivo quality of bovine embryos in vitro produced with sex-sorted sperm.** Theriogenology, Philadelphia, v. 78, n. 1, p. 1465-1475, 2012.

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

Varago FC, Mendonça LF, Lagares MA. **Produção in vitro de embriões bovinos: estado da arte e perspectiva de uma técnica em constante evolução.** Rev Bras Reprod Anim, v.32, p.100-109, 2008.

VAJTA, G. **Vitrification of the oocytes and embryos of domestic animals.** Animal Reproduction Science, v.60-61, p.357-364, 2000.

VAJTA, G.; KUWAYAMA, M. **Improving cryopreservation systems.** Theriogenology, v. 65, p. 236-244, 2006.