



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM SANIDADE E REPRODUÇÃO DE RUMINANTES

FRANCISCO DA SILVA ALVES PINHEIRO NETO

**AVALIAÇÃO DA IATF EM NOVILHAS GIROLANDO UTILIZANDO-SE
DIFERENTES PROTOCOLOS COM SÊMEN SEXADO**

GARANHUNS
2015

FRANCISCO DA SILVA ALVES PINHEIRO NETO

**AVALIAÇÃO DA IATF EM NOVILHAS GIROLANDO UTILIZANDO-SE
DIFERENTES PROTOCOLOS COM SÊMEN SEXADO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Reprodução de Ruminantes da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Sanidade e Reprodução de Ruminantes.

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Ferrer Carneiro

GARANHUNS
2015

FICHA CATALOGRÁFICA

FRANCISCO DA SILVA ALVES PINHEIRO NETO

**AVALIAÇÃO DA IATF EM NOVILHAS GIROLANDO UTILIZANDO-SE
DIFERENTES PROTOCOLOS COM SÊMEN SEXADO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Reprodução de Ruminantes da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Sanidade e Reprodução de Ruminantes.

Aprovada em: ____/____/____

Prof. Dr. Gustavo Ferrer Carneiro
Presidente da Banca-Unidade Acadêmica de Garanhuns/UFRPE

Prof. Dr. Cláudio Coutinho Bartolomeu
Universidade Federal Rural de Pernambuco/UFRPE

Prof. Dr. André Mariano Baptista
Universidade Federal Rural de Pernambuco/UFRPE

GARANHUNS
2015

Dedico este trabalho a toda a minha família, em especial às minhas filhas e minha esposa, as quais contribuíram para o meu crescimento profissional e para a realização desta obra.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pelo Dom da vida, da saúde, do amor e da sabedoria e, sobretudo pela proteção incondicional.

À minha esposa Dora e minhas filhas Raissa, Hana e Yasmim pela paciência em tolerar a minha ausência e as minhas agonias durante esse período. Amo vocês!

Ao meu querido genro Caio Veríssimo que sempre esteve presente com muita paciência e dedicação. Você também é responsável por essa vitória!

Aos meus pais, Nélio e Maria Bernadete, pelo apoio de sempre.

Aos meus pais de coração, que tive a sorte de encontrar, Arnaldo e Amyris, pela força, carinho e amizade nas horas mais difíceis.

À minha avó de saudosa memória, Áurea Ferrer, a qual me ensinou a prosseguir com amor e coragem, fazendo sempre o melhor possível.

Ao meu orientador e amigo, professor Dr. Gustavo Ferrer Carneiro, pelo incentivo e presteza no auxílio às atividades e discussões sobre o andamento e normatização deste trabalho de conclusão do meu curso de mestrado. Agradeço as ricas sugestões a esse trabalho, assim como sua compreensão, que muito me ajudaram a superar as situações-limite de prazo, estimulando-me a seguir em frente.

Especialmente ao Professor Cláudio Coutinho Bartolomeu e a professora Carla Mendonça pelo espírito inovador e empreendedor na tarefa de multiplicar seus conhecimentos pelas suas disciplinas. Sou imensamente grato pelo incentivo. Não apenas valorizo os comentários e observações críticas a respeito de textos e as ricas lições, mas também sua amizade. Vocês foram indispensáveis!

A todos os outros professores do programa e seus convidados, pelo carinho, dedicação e entusiasmo demonstrado ao longo do curso, bem como pelos ensinamentos e apoio com que me presentearam e que certamente são a meu favor sempre.

Aos meus colegas de classe pela espontaneidade e alegria na troca de informações e matérias numa rara demonstração de amizade e solidariedade. Especialmente a Maria Dolores que esteve ao meu lado desde o início e a quem sou eternamente grato pelo grande estímulo dado para que pudesse realizar esse feito. Com você compartilhei prazeres e dificuldades durante essa jornada. Sem a sua colaboração com certeza eu não estaria aqui elaborando esse trabalho. Meu muito obrigado de coração, você é especial!

Ao Sr Gilson Andrade Pessoa, proprietário da fazenda Chaparral que permitiu que o meu experimento fosse realizado em sua propriedade, utilizando para tanto os seus animais. E especialmente a Luizinho e Galego, funcionários que muito me ajudaram na execução do mesmo, sempre com muita boa vontade, com total participação e harmonia.

Aos demais idealizadores, coordenadores e funcionários da Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE, tanto da Sede em Recife com da Unidade Acadêmica de Garanhuns - UAG.

À clínica de Bovinos pelo apoio incondicional sempre.

À FACEPE e CAPES pela bolsa concedida para realização do meu curso de mestrado.

Ao laboratório Hertape Calier, Rancho Alegre e Alta Genetics pelo apoio na realização do projeto.

À banca de defesa pela disponibilidade em aceitar participar e compartilhar comigo deste momento tão importante em minha carreira.

A todos que tive oportunidade de conviver e que contribuíram de alguma forma para a realização deste projeto.

“Chegará o dia em que o homem conhecerá o íntimo de um animal. E neste dia, todo crime contra um animal será um crime contra a humanidade”.

Leonardo da Vinci

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi comparar o resultado de diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF), utilizando-se sêmen sexado sobre a eficiência reprodutiva em novilhas Girolando. Foram utilizadas 62 novilhas clinicamente híginas e com escore corporal entre 2,5 e 3,5, divididas aleatoriamente em 03 grupos: controle (n=21), FSH/LH (n=21) e eCG (n=20). Todos os animais receberam o mesmo tratamento hormonal para sincronização do estro, consistindo na colocação de dispositivo intra-vaginal com 750 mg de progesterona (P4) no D0 às 17:00 horas e aplicação de 2 mg de benzoato de estradiol (BE). No D8 às 17:00 horas foram retirados os implantes e aplicado 2 ml de prostaglandina (0,500 mg cloprostenol). No D9 todos os animais receberam 1 mg de benzoato de estradiol (BE) às 17:00 horas. E foram inseminadas no D11 às 5:00 horas, isto é 60 horas após retirada do implante. No D8, as novilhas foram distribuídas aleatoriamente em 3 Grupos. Grupo controle sem FSH/LH e eCG, Grupo FSH/LH – 25 UI de FSH e LH aplicados na retirada do implante, Grupo eCG – 300 UI de eCG aplicados na retirada do implante. As novilhas foram examinadas por ultrassonografia 35 dias após a IA para diagnóstico de gestação e aos 45 dias para avaliação de perda embrionária. O percentual de prenhez para os grupos Controle, FSH/LH e eCG foram respectivamente 19%, 28% e 35%. Os dados foram avaliados pelo teste do Qui-quadrado, com nível de significância de 5%. Não houve diferença significativa entre os grupos. Ao avaliarmos a taxa de prenhez entre o Grupo Controle e o Grupo eCG em novilhas que não estavam ciclando houve uma diferença significativa. Conclui-se que em animais cíclicos, a eCG e o FSH/LH não interferiram nas taxas de prenhez. Entretanto quando comparado com os animais acíclicos ou que tinham folículos menores que 8 mm, a eCG teve um efeito favorável melhorando substancialmente os resultados.

Palavras-chave: Inseminação artificial, ovulação e bovino.

ABSTRACT

The aim of this study was to compare the results of different protocols of Timed Artificial Insemination (TAI) using sexed semen on reproductive efficiency in Girolando cattle. Sixty two heifers were used, being clinically health with a body condition between 2,5 and 3,5, divided randomly into 03 groups: control (n = 21), FSH / LH (n = 21) and eCG (n = 20). All animals received the same hormonal treatment to synchronize estrus, consisting in placing on D0 (5:00 PM) intra-vaginal device with 750 mg progesterone (P4), and 2 mg of estradiol benzoate (EB). In D8 (5:00 PM) device were removed and 2 mL of prostaglandin (0.500 mg cloprostenol) was administered. On D9 all animals received 1 mg of estradiol benzoate (EB) (5:00 PM), and were inseminated on D11 at 5:00 PM, 60 hours after device removal. On D8, heifers were randomly assigned into 3 groups. Control group without FSH / LH and eCG; Group FSH / LH - 25 IU FSH and LH administered after device removal, Group eCG - 300 IU eCG administered after device removal. Heifers were examined by ultrasonography 35 days after AI for pregnancy diagnosis and 45 days or evaluation of embryonic death. The pregnancy rate for control groups, FSH / LH and eCG were respectively 19%, 28% and 35%. Data were analyzed by chi-square, with 5% significance level. No significant difference was seen between-groups. When it was compared control group and eCG Group in heifers that were not cycling there was a significant difference in pregnancy rate. It is concluded that in cycling animals, eCG and FSH / LH does not interfere with pregnancy rates, however in those heifers that were not cycling or had smaller than 8 mm follicles, eCG had a favorable effect thereby increasing substantially the results.

Keywords : Artificial insemination, ovulation and bovine.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALH	Amplitude do deslocamento Lateral do Espermatozóide
BE	Benzoato de Estradiol
BFC	Frequência de Batimento Flagelar cruzado
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de nível Superior
CASA	Computer Assisted Sperm Analysis
CBRA	Colégio Brasileiro de Reprodução Animal
CL	Corpo Lúteo
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
E2	Estradiol
eCG	Gonadotrofina coriônica Equina
EUA	Estados Unidos da América
FACEPE	Fundação de Amparo A Ciência e tecnologia do Estado de Pernambuco
FIV	Fertilização in vitro
FO	Folículo Ovulatório
FSH	Hormônio Folículo Estimulante
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofinas
IA	Inseminação Artificial
IATF	Inseminação Artificial em Tempo Fixo
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e estatística
LH	Hormônio Luteinizante
LIN	Linearidade
MP	Motilidade Progressiva
MT	Motilidade Total
PGF2 α	Prostaglandina
SNC	Sistema Nervoso Central
SRT	Retinearidade
TE	Transferência de embrião
UFRPE	Universidade Federal Rural de Pernambuco
UI	Unidade Internacional
VAP	Velocidade Média do percurso
VCL	Velocidade curvelinear
VSL	Velocidade em linha reta
WOB	Índice de oscilação ou Wobble

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Avaliação das funções cinéticas dos Espermatozóides..... 24

PUBLICAÇÃO

Figura 1. Protocolos de IATF..... 51

Figura 2. Valores para análise computadorizada do movimento espermático..... 51

Figura 3. Média da precipitação e temperatura mensal do município de Ilmo
Marinho..... 51

Figura 4. Protocolos de IATF..... 51

LISTA DE TABELAS

PUBLICAÇÃO

Tabela 1.	Taxa de prenhez de novilha Girolando de acordo com o tratamento utilizado na IATF com sêmen sexado.....	52
Tabela 2.	Taxa de prenhez de novilha Girolando cíclicas (com CL) de acordo com o tratamento utilizado na IATF com sêmen sexado.....	52
Tabela 3.	Comparação dos custos e receitas entre o sêmen sexado e convencional..	52

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. OBJETIVOS.....	15
2.1. Objetivo geral.....	15
2.2. Objetivos específicos.....	15
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	16
3.1. Puberdade.....	16
3.2. Ciclo Estral.....	16
3.3. Dinâmica Folicular e Função Luteínica.....	17
3.4. Hormônios da reprodução.....	20
3.4.1. Hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH).....	20
3.4.2. Gonadotrofinas (FSH e LH).....	20
3.4.3. Estrógeno.....	20
3.4.4. Progesterona.....	21
3.4.5. Prostaglandinas.....	21
3.5. Sêmen Sexado.....	21
3.6. Análise computadorizada de espermatozóides.....	23
3.7. Inseminação artificial com sêmen sexado.....	25
3.8. Sincronização do Estro e Ovulação.....	26
3.8.1. Sincronização com Progesterona associados ao estradiol e ou GnRH.....	26
3.8.2. Utilização do eCG em protocolos de IA.....	27
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28
5. ARTIGO CIENTÍFICO.....	36

1. INTRODUÇÃO

O Brasil vem apresentando aumento gradativo na produção leiteira. De 2000 a 2012 a produção cresceu quase 50%. Segundo o IBGE em 2012 o Brasil produziu 32,3 bilhões de litros, volume 49,2% superior a produção de 2002 que foi de 21,6 bilhões. No ano de 2012, o Estado de Pernambuco produziu 609 milhões de litros, ficando em décimo lugar no “ranking” de produção leiteira (Fonte IBGE).

A atual situação econômica da pecuária mundial exige dos produtores máxima ação para garantia de retorno econômico. Assim índices de produção elevados, associados à alta eficiência reprodutiva, devem ser metas para técnicos e criadores alcançarem maior produtividade (BIOGENESIS, 2004). Estima-se que no Brasil, apenas 10% das fêmeas em idade reprodutiva são inseminadas (ASBIA, 2011). Em 2013 a inseminação artificial (IA) na atividade leiteira teve um crescimento de 9,6 % , enquanto que na atividade de corte o crescimento foi de apenas 3% (três por cento) (ASBIA, 2013). Segundo a ASBIA o número de vacas inseminadas teve crescimento médio de 5,5% em 2013 e uma estimativa de 14,3 milhões de doses vendidas. De acordo com Biogenesis (2004), a evolução nos rebanhos seria mais rápida com as aplicações de biotécnicas como fertilização *in vitro* (FIV) e transferência de embriões (TE). Porém a biotecnologia mais empregada é a inseminação artificial (IA).

Na bovinocultura de leite o sexo do bezerro é um dos fatores determinantes para o desempenho reprodutivo e econômico da atividade. Em fazendas produtoras de leite o macho tem pouco ou nenhum valor. Após o avanço tecnológico de 1984 com o uso da ultrassonografia no estudo dos ovários das fêmeas bovinas (GINTHER, *et al.*, 1986) possibilitou-se um maior entendimento da dinâmica folicular das fêmeas e os hormônios atuantes em cada etapa (GINTER, *et al.*, 2001 e BARUSELI *et al.*, 2007). Com este novo conhecimento diversos fármacos hormonais passaram a ser utilizados na reprodução animal, visando tratar distúrbios ou como facilitadores de manejo que possibilitam o aumento da eficiência reprodutiva dos animais (JOHNSON, 2005 e BINELLI *et al.*, 2006).

O uso da ultrassonografia em tempo real como ferramenta para uma melhor gestão da eficiência reprodutiva é hoje uma realidade que permite um diagnóstico precoce de gestação e o acompanhamento da saúde ovariana e uterina dos animais (BEAL *et al.*, 1992), assim como a diferenciação e o monitoramento do folículo dominante e da ovulação (FORTUNE *et al.*, 2001).

A utilização de diversos protocolos hormonais para a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) vem sendo proposto por vários pesquisadores (BARUSELLI *et al.* 2004;

MADUREIRA & PIMENTEL 2005; VASCONCELOS *et al.*, 2006). Muitos fatores interferem nos resultados destes protocolos tanto ligados à inseminação (SAACKE, 2008), quanto ligados ao sêmen (COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL-CBRA, 1998) como também à condição nutricional dos animais (VASCONCELOS *et al.*, 2006). A IATF cresceu muito no cenário nacional e aumentou muito o interesse da associação desta técnica com a sexagem espermática, que permite a separação dos espermatozoides contendo o cromossomo Y daqueles que contém o cromossomo X (BODMER *et al.*, 2005). A taxa de fertilidade obtida com o uso do sêmen sexado é menor que a do sêmen convencional (GARNER, 2006). Devido à exposição das células espermáticas a diversos fatores estressantes tais como, o corante Hoechst, o laser, à velocidade, à desaceleração brusca, ao tempo e a centrifugação para aumentar a concentração (SCHENK ET AL., 1999). Além disso, a dose de sêmen sexado tem baixa concentração espermática, por causa do baixo rendimento da técnica de separação espermática por meio da citometria de fluxo (BARUSELLI *et al.*, 2007; DEJARNETE *et al.*, 2110).

O sêmen sexado necessita de menos tempo para a capacitação devido ao processo de separação por citometria de fluxo (LU *et al.*, 2004). Uma das possibilidades de diminuir a variação do momento da ovulação é o emprego de técnicas de sincronização. Novilhas leiteiras sincronizadas com progestágenos e estradiol ovulam cerca de 70-72 horas após a retirada dos implantes (SOUZA *et al.*, 2006, BARUSELLI *et al.*, 2008). A IATF próxima à ovulação aumentaria a taxa de concepção quando da utilização de sêmen sexado, devido ao sêmen sexado apresentar menor período de viabilidade e menor tempo para capacitação no trato reprodutivo. Fundamentado nesses estudos, durante o experimento foi realizada a inseminação 60 horas após a retirada do implante com sêmen sexado.

O tratamento com eCG no momento da retirada do implante vem sendo usado para melhorar os índices de fertilidade, através de mudanças no padrão do crescimento folicular e na função do corpo lúteo (BARUSELLI *et al.*, 2004, SOUZA *et al.*, 2009).

A eCG pode aumentar o diâmetro do folículo pré-ovulatório no momento da IATF, melhorar a taxa de ovulação e aumentar as concentrações plasmáticas de progesterona durante a fase luteal subsequentes (SÁ FILHO *et al.*, 2010). Baruselli *et al.*, comparando animais com presença ou ausência de CL no início do tratamento ao utilizarem eCG observaram que não houve efeito medicamento sobre a taxa de prenhes dos animais que apresentavam CL. Já o eCG influenciou significativamente naqueles animais que apresentaram folículos. Cutaia *et al.*, (2003), observaram que a utilização do eCG no

momento da retirada do dispositivo de liberação de progesterona é menos adequada do que a aplicação de BE 24 horas após a remoção do dispositivo. E que a combinação do eCG com o BE não aumentou significativamente as taxas de prenhez, mas o aumento do número de prenhez das vacas com baixo escore corporal merecem um investigação mais aprofundada.

O melhor momento para se realizar a IA com sêmen sexado, seria após a ovulação ou próxima desta (BARUSELLI et al., 2008). E a utilização do benzoato de estradiol (BE) parece ter benefícios em protocolos com sêmen sexado (ANDRADE et al., 2012). O benzoato de estradiol possui uma meia vida mais curta, tornando sua ação mais sincrônica com relação aos outros ésteres de estradiol (RIBEIRO FILHO, 2001).

Os baixos índices de prenhez e o alto custo da dose do sêmen sexado desestimula a utilização desta técnica. Baseado nessa premissa, objetivou-se obter nesse experimento resultados que justifiquem a aplicação desta tecnologia no campo.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Verificar o efeito dos tratamentos com eCG e do FSH/LH, na taxa de prenhez em novilhas Girolando inseminadas com sêmen sexado.

2.2. Objetivos específicos

- Avaliar a taxa de concepção e a viabilidade econômica com uso de sêmen sexado.
- Avaliar o efeito do FSH/LH e eCG nas taxas de prenhez utilizando-se sêmen sexado em fêmeas Girolando.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Puberdade

Um macho ou uma fêmea alcança a puberdade quando se mostra capaz de liberar seus gametas e exibir comportamento sexual (HAFEZ, 2004). A idade da puberdade em novilhas está diretamente relacionada à raça e à alimentação. O início da puberdade está mais intimamente relacionado com o peso corpóreo do que com a idade (HAFEZ, 2004).

Em média para as raças européias, a puberdade chega entre os 9 e 12 meses de idade, para as zebuínas até os 24 meses e para as meio sangue entre os 12 e os 20 meses (VAZIN, 2000). O gado leiteiro atinge a puberdade quando seu peso representa 30 a 40% do peso adulto (HAFEZ, 2004). A maturidade sexual é definida como a idade em que o animal atinge o seu potencial reprodutivo máximo. Essa maturação sexual é evidenciada pelo aumento da incidência de manifestação de estro e da fertilidade (BYERLEY et al., 1987).

3.2. Ciclo Estral

Ciclo estral define-se como sendo o ritmo funcional dos órgãos femininos que se estabelece a partir da puberdade. Compreende as modificações cíclicas na fisiologia e na morfologia dos órgãos genitais e também no perfil dos hormônios relacionados (ANTONIOLLI, 2002). A duração do ciclo estral é de aproximadamente 21 dias, variando entre 18 e 24 dias. A duração do estro varia de 12 a 24 horas (MORAES *et al.*, 2001) e a ovulação ocorre em torno de 24 a 30 horas após o início de estro (DROST, 1995). Quanto ao desenvolvimento do ciclo estral as vacas são poliéstricas anuais. As fases do ciclo podem ser divididas em proestro, estro, metaestro e diestro (REECE, 1996).

Proestro, com 2 a 3 dias de duração, é caracterizado pela queda dos níveis de progesterona, pelo desenvolvimento folicular e pelo aumento dos níveis de estradiol no sangue. A liberação do GnRH pelo hipotálamo estimula a secreção de FSH e LH da hipófise. Os níveis elevados de FSH no sangue induzem o desenvolvimento dos folículos e, em sinergismo com o LH, estimulam a sua maturação. À medida que o folículo se desenvolve, aumenta a produção de estradiol pelos folículos, e após uma determinada concentração, o estradiol estimula a manifestação do estro e a liberação do LH, dando início ao estro (CUNNINGHAM, 1999).

Estro é o período em que a fêmea aceita ser montada pelo macho. As glândulas uterinas, cervicais e vaginais secretam grande quantidade de muco de consistência viscosa.

A vagina e a vulva tornam-se edemaciadas e dilatadas e a cérvix está relaxada. O tempo de duração do estro é em média 18 horas (ARTHUR, 1979).

Com o fim do estro, tem início o período de desenvolvimento do corpo lúteo, ou fase luteínica. Esta fase pode ser subdividida em metaestro e diestro. O metaestro, com duração de 2 a 3 dias, tem como característica principal a ovulação que é a liberação do óvulo pelo folículo (VANZIN, 2000).

O diestro é o período entre estros sucessivos em que há a presença do corpo lúteo cíclico. As glândulas uterinas estão ativas, a musculatura uterina está sobre efeito da progesterona e conseqüentemente flácida, cérvix contraída e a vagina encontra-se com lábios enrugados. O tempo de duração do diestro é em torno de 10 a 13 dias (ARTHUR, 1979).

3.3. Dinâmica Folicular e Função Luteínica

De acordo com BORGES *et al.* (2004) o processo contínuo de crescimento e regressão folicular é conhecido como dinâmica folicular. Enquanto que o folículo é uma estrutura endócrina transitória consistindo de uma camada interna de células da granulosa, uma membrana basal e uma camada externa de células da teca. O oócito encontra-se preso às células da granulosa pelas células do cumulus e está circundado pelo fluido folicular existente no antro do folículo.

Segundo ANTONIOLLI (2002), o GnRH é secretado pelo hipotálamo, atingindo a hipófise e estimulando a liberação das gonadotrofinas FSH e LH. Via circulação sanguínea, as gonadotrofinas chegam aos ovários, onde o FSH estimula o desenvolvimento dos folículos (ANTONIOLLI, 2002). Segundo FORTUNE *et al.*, (2004), o recrutamento de cada onda é iniciado através de um pequeno aumento de FSH circulante. O FSH estimula a mitose em células da granulosa e induz a sensibilidade destas células ao LH, já que promove um aumento no número de receptores para LH. Tal aumento prepara as células da granulosa ao pico ovulatório de LH (HAFEZ, 2004).

O LH se liga aos seus receptores nas células tecais e promove a produção de testosterona e outros esteróides. O FSH se liga aos seus receptores nas células da granulosa e promove a conversão dos andrógenos, produzidos nas células tecais, em estradiol (FORTUNE, 1994). O FSH induz receptores adicionais para o FSH além de induzir a formação de receptores para o LH, enquanto que o LH diminui o número de receptores para FSH na granulosa (STABENFELDT & EDQVIST, 1996). O ovário possui milhares de folículos primordiais em estado inativo, alguns destes são recrutados para iniciar o

desenvolvimento. Grupos de folículos de 5-8 mm emergem sobre a superfície ovariana e podem ser observados através da ultrassonografia. A emergência de um grupo de folículos é precedida por uma elevação dos níveis de FSH.(FORTUNE, 1994; GINTHER *et al.*, 1999).

Este crescimento dos folículos ovarianos em bovinos é denominado de ondas de crescimento folicular e ocorre mesmo antes da puberdade, durante o ciclo estral, durante a prenhez e no pós-parto (STEVENSON & PURSLEY, 1994; BEAM & BUTLER, 1997).

Com o desenvolvimento dos folículos ocorre o aumento nos níveis de estradiol na circulação, o que provoca a redução do FSH para níveis basais através de feedback negativo (FORTUNE *et al.*, 2004). Na supressão final de FSH, ocorre um desvio nas taxas de crescimento entre folículos subordinados e o folículo dominante, sendo que o folículo dominante passa a ser dependente de LH e os outros entram em atresia, pois são dependentes de FSH (GINTHER *et al.*, 1996).

As células da granulosa produzem inibina. As inibinas atuam como sinalizadores químicos para a hipófise sobre o número de folículos em crescimento no ovário. Esta reduz a secreção de FSH até um certo nível sem alteração da liberação do LH, as inibinas são parcialmente responsáveis pela liberação diferenciada de LH e FSH pela hipófise (HAFEZ, 2004).

A diminuição dos níveis plasmáticos de progesterona permite aumento dos níveis de estrógeno e do LH, pois segundo MIES FILHO (1977), o estímulo que determina a liberação do LH é o estrógeno. Quando a quantidade de estrógeno na circulação chega em determinado nível, sensibiliza as áreas superiores do SNC, fazendo com que a fêmea entre no estro. Age também nos centros controladores da onda pré-ovulatória de GnRH, fazendo com que grande quantidade deste hormônio seja liberada na circulação (ANTONIOLLI, 2002), provocando o efeito feedback positivo. Com a produção do FSH parcialmente bloqueada, o pico de liberação do GnRH faz com que ocorra um pico de LH, que é responsável pela ovulação, irá ovular o folículo que possui maior número de receptores para LH (ANTONIOLLI, 2002).

Em um ciclo estral um grupo de 10 a 50 folículos com 2 a 3 mm emergem entre os dias 1 ao 3 após o estro. Alguns crescem até 4 a 6 mm e 2 a 5 folículos maiores continuam o crescimento enquanto os outros regredem. Pelo menos um folículo continua o crescimento e torna-se dominante (BODENSTEINER *et al.*, 1996). O tamanho do folículo ovulatório (FO) é altamente variável entre fêmeas bovinas, em novilhas da raça Holandesa foram observados FO de 14,8 mm (SARTORI *et al.*, 2000). Foram observados FO com

tamanhos de 16,5 mm em novilhas com duas ondas foliculares, e FO com 13,9 mm em novilhas com três ondas foliculares (GINTHER *et al.*, 1989).

Os folículos crescem e se desenvolvem em todas as fases do ciclo estral, incluindo a fase luteínica (STABENFELDT & EDQVIST, 1996), no entanto o folículo dominante só se tornará ovulatório se os níveis de progesterona estiverem baixos, pois a progesterona bloqueia a liberação do pico de LH e a ovulação.

A onda pré-ovulatória de LH afeta a maturação do oócito; a granulosa torna-se responsiva ao LH e começa a secretar progesterona, formando uma estrutura tipo luteínica mesmo antes da ovulação que produzem substâncias intrafoliculares, que promovem a ruptura do folículo (STABENFEDT & EDQVIST, 1996).

SARTORI *et al.*, (2004) demonstraram que tanto o tamanho do CL quanto a secreção de progesterona continuam subindo até pelo menos o 14º dia do ciclo.

A funcionalidade do CL dos ruminantes (medido pela secreção de progesterona) é regulada por LH proveniente da hipófise anterior. A regressão do CL não pode ser atribuída à queda nos estímulos luteotróficos (especialmente LH), mas sim na presença de um fator luteolítico, a PGF2 α , que é produzida pelo endométrio durante todo o ciclo estral, mas sua concentração máxima é atingida no momento da luteólise de cada espécie (MORAES *et al.*, 2001). A luteólise pode ser induzida com uma aplicação única de análogos da PGF2 α somente a partir do quinto dia do ciclo. A luteólise pode ser bloqueada naturalmente pela ação de uma proteína produzida pelo concepto chamada trofoblastina (também chamada de interferon tau) que é produzida durante o período próximo a implantação do embrião nos dias 15 a 25 após a ovulação e fecundação (MORAES *et al.*, 2002).

Com relação à dinâmica folicular de bovinos de raças européias, estes podem apresentar duas, três ou, até mesmo quatro ondas de crescimento folicular (SIROIS & FORTUNE, 1988; GINTHER *et al.*, 1989; MURPHY *et al.*, 1990).

A ocorrência de duas ou três ondas de crescimento folicular é determinada pela taxa de crescimento folicular e pela duração da fase lútea (KASTELIC *et al.*, 1990). O intervalo médio entre as ovulações é menor (20 dias) para ciclos com duas ondas e maior (23 dias) para ciclos com três ondas (GINTHER *et al.*, 1989). O número de ondas do ciclo estral pode ser influenciado por diversos fatores: nutrição, raça e o clima. Os fatores nutricionais parecem ser os mais importantes (MURPHY *et al.*, 1991). Sangritavong *et al.*, (2002) demonstraram que vacas lactantes têm um metabolismo de E2 muito maior do que não lactantes. Os folículos das vacas lactantes precisam crescer um pouco mais para

produzirem E2 suficiente para induzir comportamento de estro e o pico pré-ovulatório de GnRH/LH. Vacas lactantes ovulam folículos maiores e produzem um CL maior, entretanto têm concentrações séricas de P4 reduzidas, provavelmente devido ao maior metabolismo deste esteróide (SARTORI *et al.*, 2004).

3.4. Hormônios da reprodução

Hormônios são substâncias químicas produzidas por tecidos específicas, transportados em baixas concentrações pelo sistema vascular, para agir sobre outros tecidos (JAMES G. CUNNINGHAM *et al.*, 2004). Eles podem ser de atividade autócrina, parácrina e endócrina. Os principais hormônios envolvidos com o ciclo estral são os hormônios hipotalâmicos (GnRH), hipofisários (LH e FSH), gonadais (estradiol, progesterona) e as prostaglandinas (HAFEZ, 2004).

3.4.1. Hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH)

O GnRH é sintetizado e armazenado no hipotálamo, em resposta à estimulação nervosa, pulsos de GnRH são liberados no sistema porta-hipotalâmico-hipofisário promovendo a liberação de FSH e LH. A liberação pulsátil de GnRH é responsável pela manutenção e secreção de níveis de FSH e LH pela hipófise (HAFEZ & HAFEZ, 2004).

3.4.2. Gonadotrofinas (FSH e LH)

A hipófise secreta o FSH e o LH. Nos machos sob a influência do LH são formados os andrógenos nas células intersticiais dos testículos, sendo a testosterona o hormônio mais importante. Nas fêmeas, o LH vai influenciar na formação de estrógenos nos folículos terciários (H.GURTLER *et al.*, 1987). O LH estimula a ovulação e a luteinização dos folículos ovarianos na fêmea. O FSH tem como funções principais estimular o crescimento folicular e a espermatogênese no macho (HAFEZ & HAFEZ, 2004).

3.4.3. Estrógeno

Os estrógenos são formados pelo epitélio folicular, além das células do córtex supra-renal e nos testículos e, durante a prenhez, na placenta. Os estrógenos atuam no desenvolvimento das características sexuais secundárias das fêmeas (H. GURTLER *et al.*, 1987). Atuam no SNC induzindo o comportamento de estro na fêmea. Exercem efeitos de retroalimentação tanto negativa quanto positiva no controle da liberação de LH e FSH através do hipotálamo (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

3.4.4. Progesterona

A progesterona é secretada pelo corpo lúteo, e prepara o útero para o início e manutenção da gestação (JAMES C. CUNNINGHAM *et al*, 2004). A progesterona é o progestágeno natural, sendo secretada pelas células luteínicas do corpo lúteo, pela placenta e pelas glândulas adrenais. É transportada na corrente circulatória por uma proteína de ligação. A secreção de progesterona é estimulada primariamente pelo LH (HAFEZ e HAFEZ 2004).

Opera sinergicamente com os estrógenos para induzir o estro. Atua no desenvolvimento do tecido secretor das glândulas mamárias. Em níveis elevados a P4 inibe o aparecimento do estro e das ondas pulsáteis de LH (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

3.4.5. Prostaglandinas

A $PGF2\alpha$ é o agente natural quando presente ao final da fase luteínica do ciclo estral, pode provocar a regressão do corpo lúteo e início de um novo ciclo quando não ocorre a fertilização. E pode ser utilizada para interrupção de gestações indesejadas em sua fase inicial. Provoca também a contração da musculatura lisa no trato reprodutivo e gastrointestinal, na ereção, na ejaculação, no transporte espermático, na ovulação, no parto e na ejeção do leite (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

Nos bovinos, a regressão do CL é iniciada pela síntese e liberação uterina de $PGF2\alpha$ em torno de 14 dias após a ovulação. A síntese da $PGF2\alpha$ pára entre 6 a 12 horas após as concentrações de progesterona tornarem-se basais (JAMES G. CUNNINGHAM *et al*, 2004).

Uma elevação dos níveis de E2 promove o crescimento do miométrio, estimula a síntese e a liberação de $PGF2\alpha$. Em fêmeas com prenhez positiva, o embrião envia um sinal ao útero, prevenindo os efeitos da $PGF2\alpha$. Os efeitos luteolíticos da $PGF2\alpha$ foram usados para manipulação do ciclo estral e indução do parto (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

3.5. Sêmen Sexado

A espécie bovina possui 60 cromossomos em suas células somáticas. Os gametas possuem 29 cromossomos autossômicos, e um cromossomo sexual, sendo ele o X (fêmeas) ou o Y (machos). A determinação do sexo dos embriões ocorre em função do tipo de gameta que fertiliza o oócito (X). Segundo Moruzzi (1979) a diferença total no DNA entre espermatozóides X e Y de bovinos é, em média, de 4,2%.

Um corante fluorescente, Hoechst, é capaz de penetrar na membrana plasmática e aderir ao DNA da célula. Desta forma, os espermatozóides X adquirem em torno de 4% a mais de corante em relação aos Y. Logo espermatozóides X possuem 4% a mais de fluorescência em relação aos Y (SEIDEL JR, 2007).

Seidel e Schenk (2007) demonstraram que o citômetro de fluxo consiste em uma bomba para mover o fluido com espermatozóides pelo laser ultravioleta e pelo detector de fluorescência. O fluido sai do citômetro na forma de pequenas gotas, contendo ou não espermatozóides. Gotas contendo espermatozóides X recebem uma carga elétrica positiva; espermatozóides Y recebem uma carga negativa; se as gotas não possuem espermatozóides, mais de uma célula, defeitos espermáticos ou não são distinguidos quanto ao seu conteúdo de DNA, nenhuma carga elétrica é adicionada à gota. As gotas saem do citômetro, a uma velocidade de 80 Km/h e pressão de 50 psi, são expostas a um campo magnético positivo e negativo, que atrai as gotas eletricamente excitadas com a carga oposta. O que não recebeu carga não é atraído pelo campo e segue o fluxo para um recipiente de descarte. A produção diária de sêmen sexado é de 150 a 200 doses por dia ou 6 doses por hora com aproximadamente 2 milhões de células por dose. Existem duas grandes desvantagens no uso do sêmen sexado, o custo da dose e fertilidade inferior ao sêmen convencional.

Os fatores responsáveis pela diminuição da qualidade do sêmen sexado segundo Schenk *et al.*, (1999) são a exposição do DNA das células ao corante Hoechst, ao laser ultravioleta (LUBART *et al.*, 1997; MONTAG *et al.*, 2000), pressão (SUH e SCHENCK, 2006), efeitos da diluição do sêmen (MAXWELL *et al.*, 1996), carga elétrica, campo eletromagnético (KLINC e RATH, 2006), velocidade de saída da célula (80 a 90 Km/h), desaceleração de 90 Km/h para 0 Km/h, processo de centrifugação para aumentar a concentração, tempo de espera das células no interior da gota.

De acordo com Mocé *et al.*, (2006), após a criopreservação, o sêmen sexado apresenta reação acrossômica mais rapidamente, o processo de sexagem promove alterações na membrana espermática que culminam na aceleração do processo de capacitação espermática e reação acrossômica, o que diminui sua sobrevivência. Segundo Maxwell *et al.*, (2004), a diminuição da sobrevivência do sêmen sexado seria a sua maior limitação, que sugere modificações nas técnicas como depositar o sêmen profundamente no útero e num momento mais próximo da ovulação, isto é atrasar o horário da inseminação.

Para Klinc e Rath (2006), vários fatores podem afetar os resultados da IA com sêmen sexado, como reprodutor utilizado, qualidade espermática, concentração espermática das doses, situação reprodutivas das fêmeas, horário da IA, local de deposição do sêmen, inseminador e manejo da propriedade. E que os resultados só podem ser melhorados através do aumento da sobrevivência dos espermatozoides, alterando-se o protocolo de sexagem e criopreservação. Um dos objetivos desse estudo foi tentar melhorar os protocolos de IATF, viabilizando dessa maneira a IA com sêmen sexado.

3.6. Análise computadorizada de espermatozoides

A avaliação da motilidade e morfologia são essenciais na análise da qualidade do sêmen. Com o propósito de reduzir essa subjetividade, e de estabelecer padrões para a utilização da motilidade como critério importante na avaliação seminal, sistemas automáticos de análise de sêmen (CASA) foram desenvolvidos, fornecendo confiabilidade, velocidade, padronização e precisão na obtenção dos dados. A avaliação automatizada dos espermatozoides é de grande importância, pois informações obtidas sobre a cinética espermática têm relevância na determinação do potencial de fertilização dos espermatozoides.

A motilidade espermática é uma das características mais importantes associadas à fertilização (COX *et al.*, 2006). O CASA têm se mostrado ser uma ferramenta útil na avaliação das propriedades cinéticas dos espermatozoides, podendo prever a fertilidade do touro, através da correlação da velocidade de natação do espermatozoide com a fertilização do oócito (COX *et al.*, 2006). O sistema CASA pode analisar os seguintes parâmetros de motilidade: Motilidade Total (MT); Motilidade Progressiva (MP); Linearidade (LIN); Retilinearidade (SRT); Índice de Oscilação ou Wobble (WOB); Velocidade Curvilinear (VCL) – velocidade da trajetória real; Velocidade em Linha Reta (VSL) – velocidade média entre o primeiro e o último ponto; Velocidade Média do Percurso (VAP); Frequência de Batimento Flagelar Cruzado (BFC); Amplitude do Deslocamento Lateral do Espermatozoide (ALH).

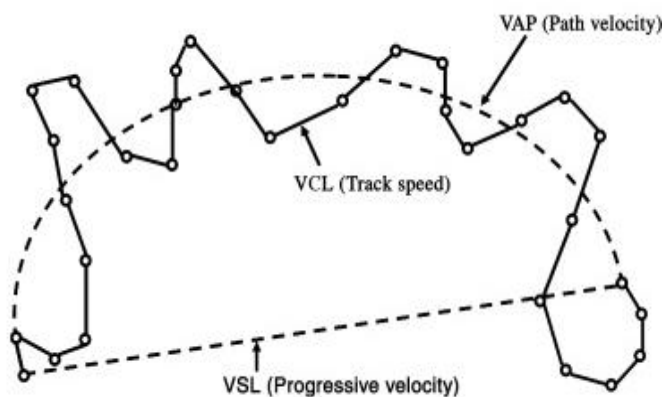


Figura 1. Avaliação das propriedades cinéticas dos espermatozoides, através da técnica CASA.

Fonte: KAHIVARAN et al., 2011.

Verstegen *et al.*,(2002), verificaram que os valores de VAP, VSL e VCL são significativamente maiores em amostras que produzem mais de 50% de oócitos fertilizados do que naquelas que tiveram a taxa de fertilização de oócito inferior a 50%. Amostras com valores elevados desses parâmetros de velocidade e de LIN e BFC apresentaram melhor migração e penetração no muco cervical (VERSTEGEN *et al.*, 2002).

Budworth et al. (1897, 1988) observaram uma correlação significativa entre motilidade e velocidade do espermatozoides com o índice de fertilidade. Amann (1989) estudou as características de motilidade do sêmen de touro congelado e descongelado e observou a correlação $MT = 0,86$, $VCL = 0,68$, $VSL = 0,70$, $LIN = 0,60$, $ALH = 0,05$ E $BCF = 0,16$.

Os estudos mostram que diferentes características de movimento dos espermatozoides avaliados pelo CASA, como motilidade progressiva e parâmetros de velocidade como VCL, VSL e VAP podem ser usados para prever a fertilidade do sêmen dos touros. No entanto, parâmetros como STR, LIN, BCF e ALH não tiveram quase nenhuma correlação com a fertilidade dos touros.

Na avaliação da Integridade de Membrana plasmática, o número de espermatozoides viáveis correlaciona-se positivamente com a fertilidade, sendo esta a variável de maior impacto na predição da fertilidade seminal (JANUSKAUSKAS *et al.*, 2003).

Quanto a avaliação da função mitocondrial, existe uma certa divergência nesta avaliação, pois a capacitação espermática leva a hiperpolarização das membranas espermáticas, incluindo a mitocondrial, podendo causar uma capacitação prematura, diminuindo a longevidade da célula espermática. Valores elevados de potencial de

membrana mitocondrial associado a altos valores de VAP, VSL, VCL e ALH, são parâmetros frequentemente relacionados ao processo de hiperativação (YANAGIMACHI, 1994; HO e SUAREZ, 2001; VERSTEGEN *et al.*, 2002; FREITAS, 2007).

3.7. Inseminação artificial com sêmen sexado

Uma das prováveis razões dos baixos índices de fertilidade do sêmen sexado consiste em sua menor sobrevivência, diminuindo o tempo de viabilidade, associado a diferentes padrões de motilidade espermática (SCHENK *et al.*, 2007). O sêmen sexado necessita de menos tempo para a capacitação devido ao processo de separação por citometria de fluxo (LU *et al.*, 2004). Uma das possibilidades de diminuir a variação do momento da ovulação seria a utilização de técnicas de IATF, o que poderia melhorar os índices dos programas de inseminação com sêmen sexado. Vacas sincronizadas com progestágenos e estradiol ovulam cerca de 70 a 72 horas após a retirada dos implantes (SOUZA *et al.*, 2006, BARUSELLI *et al.*, 2007).

Baseados nessas hipóteses Sá Filho *et al.*, (2008), realizaram um estudo em vacas Nelore, no qual a inseminação foi realizada em tempo fixo com sêmen convencional ou com sêmen sexado em dois diferentes momentos: 54 horas após a retirada do implante ou seja, 16 a 18 horas antes da ovulação e de 60 horas após a retirada, 10 a 12 horas antes da ovulação. Esperava-se que a IATF próxima a ovulação aumentaria a taxa de concepção do sêmen sexado. Foram utilizadas 390 vacas Nelore, o atraso da IATF aumentou em 9% a taxa de concepção no grupo de animais inseminados com sêmen sexado.

Baseado nos efeitos do projeto anterior, outro estudo foi realizado (Souza *et al.*, 2008) para verificar o efeito no atraso da IATF: 60 h x 64 h depois de retirada do P4. Foram utilizadas 383 vacas Nelore. Os resultados evidenciaram que ocorre redução na taxa de concepção quando a IATF é realizada 64 horas depois da retirada do implante.

Em outro trabalho realizado no Texas – EUA com novilhas Jersey cíclicas sincronizadas e inseminadas em tempo fixo, foi avaliado o efeito do atraso da IA em 6 horas no momento da IATF com sêmen sexado (SALES, *et al.*, 2010). Os animais foram sincronizados com P4 + 2 mg de BE + PGF2 α no dia 0; retirada do P4 + PGF2 α no dia 8; BE no dia 9 e IATF no dia 10 com 54 e 60 horas após retirada do P4. Verificou-se que para o sêmen sexado, houve aumento na taxa de concepção quando a IATF foi realizada 60 horas após a retirada do dispositivo de progesterona de aproximadamente 15%. Porém esse efeito não foi verificado para o sêmen convencional.

Zerbieli *et al.*(2011), estudaram o efeito do GnRH em momentos diferentes da inseminação artificial em tempo fixo com sêmen convencional ou sexado em novilhas leiteiras. Quando comparado o efeito da administração do GnRH 12 horas antes da IATF ou no momento da mesma, chegaram a conclusão que a administração do GnRH é recomendada 12 horas antes do momento da IA.

Segundo Barbosa *et al.*,(2011), o atraso da inseminação com sêmen sexado não apresentou melhora na taxa de prenhez de novilhas mestiças leiteiras, podendo ser utilizado o mesmo momento de inseminação do sêmen convencional.

Realizando a IA em horário mais próximo a ovulação, Barusseli *et al.*, (2007), realizaram IATF em 389 vacas Nelore com sêmen convencional e sexado, 54 e 60 h após remoção dos implantes, sem evidenciarem diferenças entre tratamentos.

3.8. Sincronização do Estro e Ovulação

Em bovinos, a IA apesar de apresentar uma série de vantagens vem sendo substituída pela IATF, em função da falta de mão-de-obra qualificada, dificuldade logística em grandes programas de IA, falhas na detecção de estros, pela dificuldade de aplicação prática nas condições de campo (PATTERSON, 2006).

Hormonioterapias têm sido utilizadas para sincronização do estro e ovulação, permitindo que as fêmeas sejam inseminadas num determinado período, sem a necessidade de observação de estro (MURTA; ANDRADE, 2009).

Vários protocolos foram desenvolvidos para sincronizar a onda de desenvolvimento folicular, mas somente poucos têm mostrado resultados aceitáveis e estão sendo utilizados em programas de sincronização (HANLON *et al.*, 1996). Os protocolos devem apresentar alto padrão de resposta, estreita sincronia no tempo do estro e ovulação, fertilidade normal na ovulação sincronizada, retorno normal do estro e fertilidade (LARSON & BALL, 1992).

3.8.1. Sincronização com Progesterona associados ao estradiol e ou GnRH

A grande maioria dos protocolos de IATF consistem na colocação de um dispositivo subcutâneos ou intravaginal impregnado de progesterona, por um período de 7 a 9 dias, combinado com aplicação de estrógeno intramuscular, que juntos são responsáveis pelo início de uma nova onda folicular (WITT, 2001).

A progesterona evita o pique de LH, provocando a atresia do folículo dominante, e o estradiol inibe a liberação de FSH responsável pela secreção dos folículos menores. Com

a retirada do implante de progesterona ocorre um aumento dos pulsos de LH e o crescimento de um folículo dominante que ovulará entre 48 e 72 horas após a retirada do implante (DOGI, 2005). Ao retirar a fonte de progestágeno, e na ausência de um CL funcional pela aplicação de uma prostaglandina, o animal apresentará um folículo ovulatório capaz de responder à indução da ovulação.

A aplicação de GnRH ou estrógeno após a remoção do dispositivo de progesterona, irá induzir a ovulação em um tempo pré-determinado (KOJIMA *et al.*, 1992; BÓ *et al.*, 1994).

A aplicação de prostaglandina 2 dias antes ou no momento da retirada do implante é indicada para assegurar a lise do CL, já que o BE não se mostrou efetivo na indução da luteólise (DISKIN *et al.*, 2002).

O tratamento com progesterona e estradiol tem sido eficiente na indução da atresia dos folículos em desenvolvimento e na emergência de uma nova onda folicular 3 a 5 dias depois (BÓ *et al.*, 1994; 1995).

3.8.2. Utilização do eCG em protocolos de IA

Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG) foi descoberto quando se verificou que o sangue de éguas prenhes induzia maturidade sexual quando aplicados em ratos imaturos. A eCG é uma glicoproteína com subunidades alfa e beta similares ao LH e ao FSH, e com uma meia-vida longa de diversos dias. Portanto uma única injeção de eCG possui efeitos biológicos na glândula-alvo por mais de uma semana (HAFEZ & HAFEZ, 2004).

A secreção de eCG estimula o desenvolvimento dos folículos ovarianos, resultando em um folículo pré-ovulatório maior e por sua vez um CL de maior diâmetro (BINELLI, 2001).

Baruselli *et al.*, (2003), observaram que animais em anestro com folículos grandes ou pequenos, houve resposta positiva do tratamento com eCG, já os animais cíclicos, não se notou aumento da taxa de concepção a IATF.

Segundo Hafez (1995), uma resposta melhorada à combinação de progestágenos e estrógenos ocorre quando o eCG é administrado no último dia do tratamento com progestágenos.

REFERÊNCIAS

AMANN, R..P. **Can the fertility potencial of a seminalsample be predicted accurately.** J Androl.v.10,p 89-90,1989.

ANDRADE,B.H.A.;FERRAZ,P.A.;RODRIGUES, A.S.; LOIOLA, M.V.G.; CHALHOUB, M.; RIBEIRO FILHO, A.L. **Archives of Veterinary Science.** Eficiência do cipionato de estradiol e do benzoato de estradiol em protocolos de indução da ovulação sobre a dinâmica ovariana e taxa de concepção de fêmeas nelore inseminadas em diferentes momentos. v.10,p 70-82,2012.

ANTONIOLLI, C. B. **Desenvolvimento folicular, ondas foliculares e manipulação.** Seminário (Seminário apresentado na disciplina de Endocrinologia da Reprodução do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.15f,2002.

ARTHUR, H.G. **Reprodução e Obstetrícia em Veterinária.** Guanabara, 4 ed., 1979.

ASBIA. Associação Brasileira de Inseminação Artificial. **Relatório estatístico de produção, importação e comercialização de sêmen.** 2013. Disponível em: <http://www.asbia.org.br/novo/upload/mercado/index2013.pdf> Acesso em 02/02/2015

ASBIA. Associação Brasileira de Inseminação Artificial. **Relatório estatístico de produção, importação e comercialização de sêmen.** 2011. Disponível em: <http://www.asbia.org.br/novo/upload/mercado/relatorio2011.pdf> Acesso em 26/11/2014

BARBOSA, L. P.; MENEZES, D. S.; FARIA, E. F. S.; WICKE, A. A.; OLIVEIRA, R. L.; BAGALDO, A. R.; NETO, B. M. C.; DUTRA, P. A. Inseminação artificial em tempo fixo utilizando sêmen sexado em novilhas leiteiras. **Magistra**, Bahia, v. 23, n. 3, p. 75-153, 2011.

BARUSELLI, P. S.; MARQUES, M. O.; REIS, E. L.; MELLO, J. E.; CAMPOS FILHO, E.P. Taxa de concepção de diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em vacas Bos taurus taurus x Bos taurus indicus durante o período pós-parto. In: **Simpósio Internacional de Reprodução Animal.** v.1, p.380, 2003.

BARUSELLI, P. S.; REIS, E.L.; MARQUES, M.O.; NASSER, L.F.; BÓ, G.A. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science.** v. 82, p.479–486, 2004.

BARUSELLI, P.S.; MARTINS, C.M.; REIS, P.O.; AYRES, H.; FERREIRA, R.M.; SALES, J.N.S.; CREPALDI, G.A. Produção de embriões de vacas Nelore (Bos indicus) inseminadas em tempo fixo com sêmen sexado. **Acta Scientiae Veterinariae.** v. 36, p. 443448, 2008.

BARUSELLI, P.S.; SOUZA, A.H.; MARTINS, C.M.; GIMENES, L.U.; SALES, J.N.S.; AYRES, H.; ANDRADE, A.F.C.; RAPHAEL, C.F.; ARRUDA, R.P. Sêmen sexado:

inseminação artificial e transferência de embriões. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v. 31, n. 3, p. 374-381, 2007.

BEAL, W.E.; PERRY, R.C.; CORAH, L.R. The use of ultrasound in monitoring reproductive physiology of beef cattle. **Journal of Animal Science**. v.70, p.924-929, 1992.

BEAM, S.W. & BUTLER, W.R. Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. **Biology Reproduction**. v.56, p.133-142, 1997.

BINELLI M, THATCHER WW, MATTOS R, BARUSELLI PS. Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. **Theriogenology**. v.56, 1451-1463,2001.

BINELLI M., IBIAPINA B.T. & BISINOTTO R.S. 2006. Bases fisiológicas, farmacológicas e endócrinas dos tratamentos de sincronização do crescimento folicular e da ovulação. **Acta Scientiae Veterinariae**. 34 (Supl 1): 1-7.

BIOGENESIS. **Manual Prático de Inseminação Artificial**. Curitiba: Ideal graf. Ed. Ltda, 2004.

BÓ, G.A.; CACCIA, M.; MARTINEZ, M.; ADAMS, G.P.; PIRSEON, R.A.; MAPLETOFT, R.J. The use of estradiol-17 β and progestogen treatment for the control of follicular wave dynamics in beef cattle. **Theriogenology**. v.40, p.165, 1994.

BODENSTEINER, K.J. Alterations in follicular estradiol and gonadotropin receptors during development of bovine antral follicles. **Theriogenology**. 45, p. 499-512, 1996.

BODMER, M.; JANETT, F.; HÄSSIG, M.; DES DAAS, N.; REICHERT, P.; THUN, R. Fertility in heifers and cows after low dose insemination with sex-sorted and non-sorted sperm under field conditions. **Theriogenology**, v. 64, p. 1647-1655, 2005.

BORGES, A. M.; TORRES, C. A. A.; ROCHA JUNIOR, V. R.; RUAS, J. R. M; GIOSO, M. M.; FONSECA, J. F.; CARVALHO, G. R.; MAFFILI, V. V. Follicular dynamic and ovulation time of non-lactating Gir and Nelore cows during two seasons of the year. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.80, n.5, p. 346-354, nov 2004.

BUDWORTH PR; AMMANN RP;HAMERSTED RH. **A microcomputer photographic method for evaluation of motility and velocity in bull sperm**. v.70, p.1927-1936, 1987.

BYERLEY, D. J.; STAIGMILLER, R. B.; BERARDINELLI; J. G.; SHORT, R. E. Pregnancy rates of beef heifers bred either on puberal or third estrus. **Journal Animal Science**, v. 65, p. 645-650, 1987.

COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 2. ed. Belo Horizonte. CBRA. p.11-17,1998.

COX, JF.; ALFARO, V.; MONTENEGRO, V.; RODRIGUEZ-MARTINEZ, H. Computer-assisted analysis of sperm motion in goats and its relationship with sperm migration in cervical mucus. **Theriogenology**. v.66, p. 860-867, 2006.

CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de fisiologia veterinária**. 2. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.

DEJARNETTE, J.M.; McCLEARY, C.R.; LEACH, M.A.; MORENO, J.F.; NEBEL, R.L.; MARSHALL, C.E. Effects of 2.1 and 3.5×10^6 sex-sorted sperm dosages on conception rates of Holstein cows and heifers. **Journal of Dairy Science**. v. 93, n. 9, p. 4079-4085, 2010.

DISKIN, M.G.; AUSTIN, E.J.; ROCHE, J.F. Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. **Domestic Animal Endocrinology**. n. 23, p.211-228, 2002.

DOGI, F. C. **Manejo farmacológico del ciclo estral del bovino**.2005.

DROST, D. V. M. M. **Training Manual For Embryo Transfer in Cattle**. Flórida: College of Veterinary Medicine, University of Flórida. p 59,1995.

FORTUNE, J. E.; RIVERA, G. M.; YANG, M. Y. Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. International Congress on Animal Reproduction. Porto Seguro. **Animal Reproduction Science**. v. 82-83, p. 109-126, 2004.

FORTUNE, J.E, RIVERA, G.M.; EVANS, A.C.O.; TURZILLO, A.M. Differentiation of dominant versus subordinate follicles in cattle. **Biology of Reproduction**. v.65, p.648-654, 2001.

FORTUNE, J.E, RIVERA, G.M.; EVANS, A.C.O.; TURZILLO, A.M. Ovarian follicular growth and development in mammals. **Biology of Reproduction**. v.50, p.225-232, 1994.

FREITAS CP. **Variações metodológicas na congelação de sêmen bovino sexado**. 2007. 87f. Dissertação (Mestrado, Área de Concentração: Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP.

GARNER DL. Flow cytometric sexing of mammalian sperm. **Theriogenology**, v.65, p.943-957, 2006.

GINTHER, O. J.; WILTBANK, M. C.; FRICKE, P. M.; GIBBONS, J. R.; KOT, K. Selection of the dominant follicle in cattle. **Biology of Reproduction**. v. 55, p. 1187-1194, 1996.

GINTHER, O.J.; BERGFELT, D.R.; BEG, M.A.; KOT, K. Follicle Selection in Cattle: Role of Luteinizing Hormone. **Biology of Reproduction**. v.64, p.197-205, 2001.

GINTHER, O.J.; BERGFELT, D.R.; KULICK, L.J.; KOT, K. Selection of the dominant follicle in cattle: establishment of follicle deviation in less than 8 hours through depression of FSH concentrations. **Theriogenology**. v.52, p.1079-1093, 1999.

GINTHER, O.J.; KNOPF, L.; KASTELIC, J.P. Ovarian follicular dynamics in heifers during early pregnancy. **Biology of Reproduction**. v.41, p. 247-254, 1989.

GINTHER, O.J. **Ultrasound imaging and reproductive events in the mare**. Madison. EquiServices. 1986, 377p. GÓRECKA, A.; JEZERSKI, T. Z, A. J.; SŁONIEWSKI, K. Relationships between

HAFEZ, E. S. E; HAFEZ, B. Ciclos Reprodutivos. In: HAFEZ, E. S. E; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**. 7. ed. Barueri, SP: Ed Manole,. cap. 4, p. 55-67.,2004.

HAFEZ, E.S.E. Técnicas para melhorar a eficiência reprodutiva. **Reprodução Animal**. Manole, São Paulo-SP, Brasil, 6 ed.,cap.5, p. 411-535, 1995.

H. GURTLER.; H.A. KETZ.; E. KOLB.; L. SCHRODER.; H. SEIDEL. Fisiologia Veterinária, Rio de Janeiro, 4 ed, cap.4, p.35-62, 1987.

HANLON, D.W. WILLIAMSON, N.B.; WICHTEL, J.J.; STEFFERT, I.J.; CRAIGIE, A.L.; PFEIFFER, D.U. The effect of estradiol benzoate administration on estrous response and synchronized pregnancy rate in dairy heifers after treatment with exogenous progesterone. **Theriogenology**. v.45, p. 775-785, 1996.

HO HC, SUAREZ SS. An inositol 1,4,5-trisphosphato receptor-gated intracellular Ca⁺⁺ store is involved in regulating, and acrosome reactions. **Biol Reprod**, v.65, p.1606-1615, 2001.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Estatística da Produção Pecuária, 2012. Disponível em: http://ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leite-couro-ovos_201202_publ_completa.pdf. Acesso em 12/01/2015.

JAMES G. CUNNINGHAM.; STEVEN P. BRINSKO.; AUTUMN P. DADIDSIO.; DEBORAH GRECO.; STEVEN R. HEIDEMANN.; THOMAS HERDT.; N. EDWARD ROBINSON.; GEORGE H. STABENFELDT.; ROBERT B. STEPHENSON.; JILL W. VERLANDER. **Tratado de Fisiologia Veterinária**, Rio de Janeiro, Brasil, 4 ed, cap 34-35-36-37, p. 391-416, 2004.

JANUSKAUSKAS A, JOHANNISSON A, RODRIGUEZ-MARTINEZ H. Subtle membrane changes in cryopreserved bull semen in relation with sperm viability, chromatin structure, and field fertility. **Theriogenology**, v.60, p.743-758, 2003.

JOHNSON, S.K. Possibilities with today reproductive technology. **Theriogenology**, v.64, p.639-656, 2005.

KASTELIC, J.P.; KNOPF,L.; GINTHER, O.J. Effect of day of prostaglandin F2 treatment on selection and development of the ovulatory follicle in heifers. **Animal Reproduction Science**.v.23, p. 169-180, 1990.

KLINC, P.; RATH, D. Reduction of Oxidative Stress in Bovine Spermatozoa During Flow Cytometric Sorting. **Reproduction Domestic Animal**. v.42, p. 63-67, 2006.

KOJIMA, N.; STUMPF, T.T.; CUPP, A.S.; WERTH, L.A.; ROBERSON, M.S.; WOLFE, M.W.; KITOK, R.J.; KINDER, J.E. Exogenous progesterone and progestins as used in estrous synchrony regimens do not mimic the corpus luteum in regulation of luteinizing

hormone and 17 beta-estradiol in circulations of cows. **Biology of Reproduction**. v. 47, p. 1009-1017, 1992.

LARSON, L.L.; BALL, P.J.H. Regulation of estrous cycles in dairy cattle: A review. **Theriogenology**. v. 38, p. 255-267, 1992.

L. CUTAIA.; R. TRÍBULO.; D. MORENO.; G.A. BÓ.; Effect eCG Treatment in Postpartum Beef Cows Synchronized with Progesterone Vaginal Devices and Estradiol Benzoate and Inseminated at a Fixed-Time. Annual Meeting International Embryo Transfer Society, Auckland, New Zeland 2003. **Theriogenology** 2003;. Abstr. 373.

LU KH, SEIDEL JR GE. Effects of heparin and sperm concentration on cleavage rates of bovine oocytes inseminate with flow-cytometrically-sorted bovine sperm. **Theriogenology**. v.62, p.819-830.2004;

MADUREIRA, E.H.; PIMENTEL, J.R.V. IATF como uma ferramenta para melhorar a eficiência reprodutiva. **Anais do Congresso Brasileiro de Reprodução Animal**.cap 16, Goiânia, 2005.

MAXWELL, W. M.; WELCH, G. R.; JOHNSON, L. A. Viability and membrane integrity of spermatozoa after dilution and flow cytometric sorting in the presence or absence of seminal plasma. **Reproduction Fertility and Development**. v.8, p.1165-1178, 1996.

MAXWELL, W.M.; EVANS, G.; HOLLINSHEAD, F.K.; BATHGATE, R.; DE GRAAF, S.P.; ERIKSSON, B.M.; et al. Integration of sperm sexing technology into the ART toolbox. **Animal Reproduction Science**.. v.82-83, p.79-95, 2004.

MIES, FILHO. A. **Reprodução dos Animais e Inseminação Artificial**. 4. ed. Porto Alegre, RS: Ed. Sulina, v. 1. p..359 ,1977.

MOCÉ, E.; GRAHAM, J.K.; SCHENK, J.L. **Effect of sexsorting on the ability of fresh and cryopreserved Bull sperm to undergo an acrossome reaction**.v. 66, p.929-936, 2006.

MONTAG, M. et al. Laser-induced immobilization and plasma membrane permeabilization in human spermatozoa. **Human Reproduction**. v. 15, n. 4, p.846-852, 2000.

MORAES, J. C. F.; SOUZA, C. J. H.; GONSALVES, P. B. D. Controle do Estro e da Ovulação em Bovinos e Ovinos. In: GONSALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. São Paulo: Livraria Varela. cap. 3, p. 25-55,2001.

MORAES, J.C.F.; SOUZA, C.J.H.; GONÇALVES, P.B.D. Controle do estro e da ovulaçãoem bovinos. In. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. São Paulo: Livraria Varela, p. 25-55. 2002.

MORUZZI, J. F. Selecting a mammalian species for the determination of X- and Y-chromosome-bearing sperm. **Journal of Reproduction and Fertility**. v. 57, p. 319-23, 1979.

MURPHY, M. G.; ENRIGHT, W. J.; CROWE, M. A., MCCONNELL, K.; SIP CER, L. J.; BOLAND, M. P.; ROCHE, J. F. Effect of dietary-intake on pattern of growth of dominant follicles during the estrous-cycle in beef heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**. 92, p. 333-338, 1991.

MURPHY, M.G.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.F. Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in post-partum beef suckler cows. **Journal of Reproduction Fertility**.v.90, p. 523-533, 1990.

MURTA, J. E. J.; ANDRADE, V. J. A. **Taxas de prenhez de vacas de corte inseminadas artificialmente a tempo fixo utilizando diferentes doses de análogo do GNRH**, 2009.

PATTERSON, D. J. Revisão de sistema de sincronização do estro utilizando a progesterona oral Acetato de Melengestrol. Novos enfoques na produção e reprodução de bovinos. Uberlândia: **conapec jr**. V10, 2006.

REECE, W.O. **Fisiologia de animais domésticos**. 1ed. São Paulo: Roca, p.281-311, 1996.

RIBEIRO FILHO, A.L. **Indução, sincronização e resincronização do estro e da ovulação em vacas zebuínas**. Belo Horizonte. Escola de Veterinária da UFMG.(Tese de mestrado)

SÁ FILHO, M.F. ; GIMENES, L.U. ; SALES, JNS .; CREPALDI, G.A.; MEDALHA, A.G.; BARUSELLI, P.S. . IATF em novilha. In: **3º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**. Londrina/PR ,v. 1, p. 54-67,2008.

SÁ FILHO, MF.; AYRES, H.; FERREIRA, RM.;MARQUES, MO.;REIS ,EL.;SILVA, RCP.;RODRIGUES, CA.;MADUREIRA, EH.;BÓ, GA.; BARUSELLI, PS. Equine chorionic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone enhance fertility in a norgestomet-based, timed artificial insemination protocol in suckled Nellore (*Bos indicus*) cows. **Theriogenology**. v.73, p.651-658, 2010a.

SAACKE, R.J. Insemination factors associated with timed AI in cattle. **Theriogenology**.2008.

SALES, J.N.S.; CREPALDI, G.A.; FOSADO, M.; CAMPOS FILHO, E.P.; BARUSELLI, P.S.. Timing of insemination with sexed or nonsexed semen on pregnancy rates of Jersey heifers detected in heat by radiotelemetry. In: Annual Conference of the International Embryo Transfer Society. Córdoba. **Reprod Fertil. Develop**.v. 22, p.178-178, 2010.

SANGRITAVONG S, COMBS DK, SARTORI R, WILTBANK MC. High feed intake increases blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17beta in dairy cattle. **J Dairy Science**. v.85,p. 2831-2842,2002.

SARTORI, R. Differences between lactating cows and nulliparous heifers in follicular dynamics, luteal growth, and serum steroid concentrations. **Journal of Dairy Science**. v.83 (suppl. 1), p.212, 2000.

SARTORI, R.; HAUGHIAN, J. M.; SHAVER, R.. D.; ROSA, G. J. M.; WILTBANK, M. C. Comparison of ovarian function and circulating steroids in estrous cycles of holstein heifers an lactating cows. **Journal of Dairy Science**. v. 87, n. 4, p. 905-920, 2004.

SCHENK, J.L.; SUH, T.K.; CRAN, D.G. et al. Cryopreservation of flow-sorted bovine spermatozoa. **Theriogenology**, v.52, n.8, p.1375-93, 1999.

SCHENK, JL; SUH, TK; SEIDEL, JR. Embryo production from superovulated cattle following insemination of sexed sperm. **Theriogenology**, v.65, p.299-307, 2006.

SCHENK, J.L. and G.E. SEIDEL, Jr. 2007. Pregnancy rates in cattle with cryopreserved sexed sperm: effects of laser intensity, staining conditions, and catalase. In: **Domestic Animals VI**, J.L. Juengel, J.F. Murray and M.F. Smith (Eds.), Nottingham University Press, Nottingham, UK 64:165-177.

SEIDEL, J.R.; SCHENK, G. E. Pregnancy rates in cattle with cryopreserved sexed spermatozoa: effects of laser intensity, staining conditions and catalase. **Society for Reproduction and Fertility**. v. 64, p.165–177, 2007

SEIDEL JR, G. E.; SCHENK, J. L. Pregnancy rates in cattle with cryopreserved sexed sperm: Effects of sperm numbers per inseminate and site of sperm deposition. **Animal Reproduction Science**. Amsterdam. v.105, p. 129-138, 2007.

SIROIS, J. & FORTUNE, J.E. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. **Biology of Reproduction**. v.39, p.308-317, 1988.

SOUZA, AH.; VIECHNIESKI, S.; LIMA, FA.; SILVA, F.F.; ARAÚJO, R.; BÓ, GA.; WILTBANK, M.C.; BARUSELLI, PS. Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses in dairy cows. **Theriogenology**. v.72, p.10-21, 2009.

SOUZA, AH.; MARTINS, CM.; TORRES, JR. ; AYRES, H.; BARUSELLI, PS. Efeito do eCG e do cipionato de estradiol em protocolos para inseminação artificial em tempo fixo em vacas Holandesas de alta produção. **Acta Scientiae Veterinariae**. v.34, p.404, 2006 (resumo).

SOUZA, A.H.; SALES, J.N.S.; CREPALDI, G.A.; TEIXEIRA, A.A.; BARUSELLI, P.P.; Effect of type of sêmen (sexed VS non-sexed) and time of AI (60 vs 64h) on pregnancy rates of postpartum Nelore cows inseminated in a fixed time. **Anim. Reprod**. V.6, n.1, p224, Jan/Mar 2008 [Resumo].

STABENFELDT, G. H.; EDQVIST, L. E. Processos Reprodutivos da Fêmea. In: SWENSON, M. J.; REECE, W.; DUKES. **Fisiologia dos Animais Domésticos**, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 36, p. 615-644, 1996.

STEVENSON, J.S. & PURSLEY, J.R. Resumption of follicular activity and interval postpartum ovulation after exogenous progestins. **Journal of Dairy Science**. v.77, p.725-734, 1994.

VANZIN, I.M. **Inseminação artificial e manejo reprodutivo dos bovinos**, 2000.

VASCONCELOS, J.L.M.; MENEGHETTI, M.; SANTOS, R.M. Inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em bovinos. **Acta Scientiae Veterinariae**. v.34, (supl.1) p.9-16, 2006.

VERSTEGEN .J.; IGUER-OUADA, M.; ONCLIN ,K. Computer assisted semen analyzers in andrology research and veterinary practice. **Theriogenology**, v.57, p.149-179, 2002.

WITT, A. C. **Alternativas farmacológicas para programas de sincronización de celos y/o de vulación**, 2001.

YANAGINACHI R.. Fertility of mammalian spermatozoa: its development and relativity. **Zygote**, v.2, p.371-372, 1994

ZERBIELI, C, L.; BECKER, A. ; SCHIEFELBEIN, L. ; BORGES, L.F,H. ; DIAZ, J.D. S. Efeito do GnRH em momentos diferentes da inseminação artificial em tempo fixo com sêmen convencional ou sexado em novilhas leiteiras. **Seminário Interinstitucional de Ensino, Pesquisa e Extensão, XIII Mostra de Iniciação Científica, VIII mostra de Extensão**. Universidade Unicruz, 2011.

5. ARTIGO CIENTÍFICO

1 **Avaliação da IATF em novilhas Girolando utilizando-se diferentes protocolos com**
2 **sêmen sexado**

3 *The evaluation of Timed Artificial Insemination (TAI) in Girolando heifers using*
4 *different protocols with sexed semen*

5 PINHEIRO NETO, F. S. A.¹; BATISTA. A.M.; GUERRA, M.M.P.; CARNEIRO, G.

6 F.¹

7 ¹ Universidade Acadêmica de Garanhuns – UFRPE, Av. Bom Pastor, s/n, Boa Vista, Garanhuns-PE
8 Brasil, CEP 55292-270, ANDROLAB – UFRPE, Rua D. Manoel de Madeiros, s/n, Recife-PE_Brasil
9 CEP 52171-90. Autor para correspondência: pinheironeto.f.s.a@gmail.com

10 **RESUMO**

11 O objetivo deste trabalho foi comparar o resultado de diferentes protocolos de
12 inseminação artificial em tempo fixo (IATF), utilizando-se sêmen sexado sobre a
13 eficiência reprodutiva em novilhas Girolando. Foram utilizadas 62 novilhas
14 clinicamente híginas e com escore corporal entre 2,5 e 3,5 , divididas aleatoriamente
15 em 03 grupos: controle (n=21), FSH/LH (n=21) e eCG (n=20). Todos os animais
16 receberam o mesmo tratamento hormonal para sincronização do estro, consistindo na
17 colocação de dispositivo intra-vaginal com 750 mg de progesterona (P4) no D0 às 17:00
18 horas e aplicação de 2 mg de benzoato de estradiol (BE). No D8 às 17:00 horas foram
19 retirados os implantes e aplicado 2 ml de prostaglandina (0,500 mg cloprostenol). No
20 D9 todos animais receberam 1 mg de benzoato de estradiol (BE) às 17:00 horas. E
21 foram inseminadas no D11 às 5:00 horas, isto é 60 horas após retirada do implante. No
22 D8, as novilhas foram distribuídas aleatoriamente em 3 Grupos. Grupo controle sem
23 FSH/LH e eCG, Grupo FSH/LH – 25 UI de FSH e LH aplicados na retirada do

1 implante, Grupo eCG – 300 UI de eCG aplicados na retirada do implante. As novilhas
2 foram examinadas por ultrassonografia 35 dias após a IA para diagnóstico de gestação
3 e aos 45 dias para avaliação de perda embrionária. O percentual de prenhez para os
4 grupos Controle, FSH/LH e eCG foram respectivamente 19%, 28% e 35%. Os dados
5 foram avaliados pelo teste do Qui-quadrado, com nível de significância de 5%. Não
6 houve diferença significativa entre os grupos. Ao avaliarmos a taxa de prenhez entre o
7 Grupo Controle e o Grupo eCG em novilhas que não estavam ciclando houve uma
8 diferença significativa. Conclui-se que em animais cíclicos, a eCG e o FSH/LH não
9 interferiram nas taxas de prenhez. Entretanto quando comparado com os animais
10 acíclicos ou que tinham folículos menores que 8 mm, a eCG teve um efeito favorável
11 melhorando substancialmente os resultados.

12 **Palavras-chave:** Inseminação artificial, ovulação e bovino.

13 ABSTRACT

14 The aim of this study was to compare results of different protocols of Timed
15 Artificial Insemination (TAI) using sexed semen on reproductive efficiency in
16 Girolando cattle. Sixty two heifers were used, being clinically health with a body score
17 condition between 2,5 and 3,5, divided randomly into 03 groups: control (n = 21),
18 FSH / LH (n = 21) and eCG (n = 20). All animals received the same hormonal
19 treatment to synchronize estrus, consisting in placing on D0 (5:00 PM) intra-vaginal
20 device with 750 mg progesterone (P4), and 2 mg of estradiol benzoate (EB). In D8
21 (5:00 PM) device were removed and 2 mL of prostaglandin (0.500 mg cloprostenol)
22 was administered. On D9 all animals received 1 mg of estradiol benzoate (EB) (5:00
23 PM), and were inseminated on D11 at 5:00 PM, 60 hours after device removal. On D8,

1 heifers were randomly assigned into 3 groups. Control group without FSH / LH and
2 eCG; Group FSH / LH - 25 IU FSH and LH administered after device removal, Group
3 eCG - 300 IU eCG administered after device removal. Heifers were examined by
4 ultrasonography 35 days after AI for pregnancy diagnosis and 45 days for evaluation of
5 embryonic death. The pregnancy rate for control groups, FSH / LH and eCG were
6 respectively 19%, 28% and 35%. Data were analyzed by chi-square, with 5%
7 significance level. No significant difference was seen between-groups. When it was
8 compared control group and eCG Group in heifers that were not cycling there was a
9 significant difference in pregnancy rate. It is concluded that in cycling animals, eCG
10 and FSH / LH does not interfere with pregnancy rates, however in those heifers that
11 were not cycling or had smaller than 8 mm follicles, eCG had a favorable effect thereby
12 increasing substantially the results.

13 **Keywords :** Artificial insemination, ovulation and bovine.

14 **1. INTRODUÇÃO**

15 O Brasil vem apresentando aumento gradativo na produção leiteira. De 2000 a
16 2012 a produção cresceu quase 50%. Segundo o IBGE em 2012 o Brasil produziu 32,3
17 bilhões de litros, volume 49,2% superior a produção de 2002 que foi de 21,6 bilhões.

18 Estima-se que no Brasil, apenas 10% das fêmeas em idade reprodutiva são
19 inseminadas (ASBIA, 2011). Em 2013 a inseminação artificial (IA) na atividade leiteira
20 teve um crescimento de 9,6 % , enquanto que na atividade de corte o crescimento foi de
21 apenas 3% (três por cento) (ASBIA, 2013). Segundo a ASBIA o número de vacas
22 inseminadas teve crescimento médio de 5,5% em 2013 e uma estimativa de 14,3
23 milhões de doses vendidas.

1 Na bovinocultura de leite o sexo do bezerro é um dos fatores determinantes para
2 o desempenho reprodutivo e econômico da atividade. Em fazendas produtoras de leite o
3 macho tem pouco ou nenhum valor. Após o avanço tecnológico de 1984 com o uso da
4 ultrassonografia no estudo dos ovários das fêmeas bovinas (GINTHER, *et al.*, 1986)
5 possibilitou-se um maior entendimento da dinâmica folicular das fêmeas e os hormônios
6 atuantes em cada etapa (GINTER, *et al.*.,2001 e BARUSELI *et al.*,2007). O uso da
7 ultrassonografia em tempo real como ferramenta para uma melhor gestão da eficiência
8 reprodutiva é hoje uma realidade que permite um diagnóstico precoce de gestação e o
9 acompanhamento da saúde ovariana e uterina dos animais (BEAL *et al.*, 1992), assim
10 como a diferenciação e o monitoramento do folículo dominante e da ovulação
11 (FORTUNE *et al.*, 2001).

12 A utilização de diversos protocolos hormonais para a inseminação artificial em
13 tempo fixo (IATF) vem sendo proposto por vários pesquisadores (BARUSELLI *et al*
14 2004). Muitos fatores interferem nos resultados destes protocolos tanto ligados à
15 inseminação (SAACKE, 2008), quanto ligados ao sêmen (COLÉGIO BRASILEIRO
16 DE REPRODUÇÃO ANIMAL-CBRA, 1998) como também à condição nutricional dos
17 animais (VASCONCELOS *et al.*, 2006).A IATF cresceu muito no cenário nacional e
18 aumentou muito o interesse da associação desta técnica com a sexagem espermática,
19 que permite a separação dos espermatozóides contendo o cromossomo Y daqueles que
20 contém o cromossomo X (BODMER *et al.*, 2005). A taxa de fertilidade obtida com o
21 uso do sêmen sexado é menor que a do sêmen convencional (GARNER, 2006). Devido
22 à exposição das células espermáticas a diversos fatores estressantes tais como, o corante
23 Hoechst, o laser, à velocidade, à desaceleração brusca, ao tempo e a centrifugação para
24 aumentar a concentração (SCHENK ET AL., 1999). Além disso, a dose de sêmen

1 sexado tem baixa concentração espermática, por causa do baixo rendimento da técnica
2 de separação espermática por meio da citometria de fluxo (BARUSELLI *et al.*, 2007;
3 DEJARNETE *et al.*, 2110).

4 O sêmen sexado necessita de menos tempo para a capacitação devido ao
5 processo de separação por citometria de fluxo (LU *et al.*, 2004). Uma das possibilidades
6 de diminuir a variação do momento da ovulação é o emprego de técnicas de
7 sincronização. Novilhas leiteiras sincronizadas com progestágenos e estradiol ovulam
8 cerca de 70-72 horas após a retirada dos implantes (SOUZA *et al.*, 2006, BARUSELLI
9 *et al.*, 2008). A IATF próxima à ovulação aumentaria a taxa de concepção quando da
10 utilização de sêmen sexado, devido ao sêmen sexado apresentar menor período de
11 viabilidade e menor tempo para capacitação no trato reprodutivo. Fundamentado nesses
12 estudos, durante o experimento foi realizada a inseminação 60 horas após a retirada do
13 implante com sêmen sexado.

14 O tratamento com eCG no momento da retirada do implante vem sendo usado
15 para melhorar os índices de fertilidade, através de mudanças no padrão do crescimento
16 folicular e na função do corpo lúteo (BARUSELLI *et al.*, 2004, SOUZA *et al.*, 2009).

17 A eCG pode aumentar o diâmetro do folículo pré-ovulatório no momento da
18 IATF, melhorar a taxa de ovulação e aumentar as concentrações plasmáticas de
19 progesterona durante a fase luteal subseqüentes (SÁ FILHO *et al.*, 2010). Baruselli *et*
20 *al.*, comparando animais com presença ou ausência de CL no início do tratamento ao
21 utilizarem eCG observaram que não houve efeito medicamento sobre a taxa de prenhes
22 dos animais que apresentavam CL. Já o eCG influenciou significativamente naqueles
23 animais que apresentaram folículos. O melhor momento para se realizar a IA com
24 sêmen sexado, seria após a ovulação ou próxima desta (BARUSELLI *et al.*, 2008).

1 Os baixos índices de prenhez e o custo da dose do sêmen sexado desestimula a
2 utilização desta técnica. Objetivou-se obter nesse experimento resultados que
3 justifiquem a aplicação desta tecnologia no campo.

4 **2. MATERIAL E MÉTODOS**

5 **2.1. Localização**

6 O experimento foi realizado durante o mês de agosto de 2014, na Fazenda
7 Chaparral, Município de Ielmo Marinho, região do Agreste potiguar do Rio Grande do
8 Norte, a 50 km de Natal. Latitude 05° 49' 26'' S e longitude 35° 33' 10'', com altitude
9 média de 400 metros, precipitação anual de 890 mm e temperatura média de 27,5°C.

10 **2.2. Seleção dos animais**

11 Foram utilizadas 62 novilhas da raça Girolando, identificada por brincos e
12 submetidas ao exame ginecológico com auxílio de exame ultrasonográfico. Foram
13 selecionados os animais sem alteração clínica, com escore corporal entre 2,5 e 3,5, com
14 presença de corpo lúteo e de folículos de tamanho médio e grande. Durante este exame
15 foram sorteadas 6 novilhas, as quais foram feitos exames ultrasonográficos durante o
16 experimento para mensuração dos diâmetros foliculares e dos corpos lúteos no D0, D8 e
17 D9. Todas as novilhas foram vacinadas contra IBR, BVD e Leptospirose no início do
18 experimento, criadas num sistema de confinamento, recebendo como volumoso a sobra
19 dos pés de abacaxi e concentrado contendo milho, soja, bicarbonato de sódio, sal
20 mineral e água à vontade.

21 **2.3. Avaliação do sêmen**

22 Como a criopreservação e o processo de sexagem do sêmen através de citometria
23 de fluxo podem resultar em danos da membrana, nas características da motilidade e na

1 morfologia espermática, as avaliações das amostras seminais representam um
2 componente indispensável para os programas de reprodução animal.

3 Os resultados obtidos através da Análise Computadorizada do Movimento
4 Espermático (técnica CASA, Hamilton Thorn Reseach, USA) e da integridade das
5 membranas do sêmen utilizada no projeto, foram realizados no Laboratório Androlab,
6 do departamento de Medicina Veterinária da UFRPE no Campus de Recife.

7 Verificou-se que o sêmen sexado utilizado no experimento apresentou-se dentro dos
8 padrões recomendados.

9 **2.4. Sincronização do estro e inseminação artificial**

10 Todas as novilhas receberam no dia 0 (D0) às 17:00 horas, um dispositivo
11 intravaginal contendo 750 mg g de progesterona (Prociclar®, Laboratório Hertape
12 Calier) e um injeção intramuscular de 2 mg de benzoato de estradiol (Benzoato de
13 Estradiol®, Laboratório Hertape Calier).

14 No dia 8 (D8), às 17:00 horas os animais foram separados ao acaso em três
15 grupos experimentais. Foram retirados os implantes e aplicado 150 µg de D-
16 cloprostenol (Veteglan Luteolítico®, Laboratório Hertape Calier), e colado um adesivo
17 na garupa (Estrotect®) para auxiliar na identificação dos estros.

18 No Grupo FSH/LH, foi aplicado 25 UI de FSH e 25 UI de LH (Pluset injetável®,
19 Laboratório Hertape Calier) no momento da retirada dos dispositivos. No Grupo eCG
20 foi aplicado 300 UI de eCG (Folligon® 5000 UI, Laboratório Intervet), e o Grupo
21 Controle não recebeu nem eCG e nem FSH/LH.

22 No dia 9 (D9) as 17:00 horas, os três grupos receberam uma dose de 1 mg de
23 benzoato de estradiol (Benzoato de Estradiol®, Laboratório Hertape Calier). E no dia 11
24 (D11) às 5:00 shoras da manhã foram inseminadas com sêmen sexado.

1 **2.5. Exames Ultrassonográficos**

2 Foram realizados exames ultrassonográficos por via transretal para avaliação dos
3 ovários por aparelho DP-2200Vet Digital Ultrasonic Diagnostic Imaging System
4 (Mindray®) com sonda linear transretal de 7,5 MHZ. Os exames foram realizados no
5 dia da aplicação do implante (D0).. O diagnóstico de gestação foi realizado com 35 dias
6 e 45 dias após a inseminação, a fim de avaliar perda embrionária.

7 **3. ANÁLISE ESTATÍSTICA**

8 Foi realizado o teste do Qui-quadrado, com nível de significância de 5% e
9 atenderam-se os padrões de amostragem e graus de liberdade.

10 **4. RESULTADOS**

11 A taxa de concepção média é de 29,7%, e o Grupo Controle = 28,6%, Grupo
12 FSH/LH = 30,% e Grupo eCG = 30,7%. Observa-se que o FSH/LH e eCG não
13 interferiram na taxa de prenhez dos animais que estavam ciclando (com CL). Já no
14 grupo de animais que não apresentavam corpo lúteo a taxa média de concepção entre as
15 novilhas tratado com eCG e as novilhas do grupo controle foi de respectivamente 42% e
16 0%.

17 Apesar de não diferir estatisticamente, o grupo (tabela1) de animais que foram
18 tratados com eCG tiveram um incremento de 16% na taxa de prenhez em relação ao
19 grupo controle. A utilização do eCG (Folligon®) aumenta em R\$10,36 o protocolo,
20 justificando a utilização da droga quando os animais não possuem corpo lúteo. O FSH e
21 LH (Pluset ®) custam R\$ 16,08 a dose de 1,5 ml.

1 Em trabalho realizado por BARBOSA et al.,2011 com atraso da IA na IATF
2 utilizando-se sêmen sexado em novilhas leiteiras teve uma taxa de prenhez de 25%
3 enquanto que neste experimento obtemos 35% no grupo eCG.

4 As novilhas foram inseminadas 60 horas após a retirada do dispositivo de
5 progesterona ou 36 horas após a aplicação da segunda dose de BE. O atraso na
6 inseminação influenciou positivamente nas taxas de concepção.

7 Ao avaliarmos os custos entre o sêmen sexado e o convencional num lote de 100
8 novilhas com uma taxa de prenhez de 35% para o sexado e 50% para o convencional, a
9 diferença final é de R\$ 27.500,00 de vantagem para o sêmen sexado.

10 **5. DISCUSSÃO**

11 Os resultados apresentados neste experimento são indicativos que taxas de
12 concepção em novilhas de leite inseminadas com sêmen sexado são viáveis. No
13 experimento os animais ciclando (com CL) o eCG não interferiu na taxa de prenhez
14 (controle = 26,6%, eCG = 30,4% e FSH/LH = 30%). Confirmando trabalho de
15 Baruselli *et al.* (2003) , onde ele verificou que, os animais ciclando (com CL), o eCG
16 não interferiu nas taxas de prenhez. Já o eCG influenciou significativamente naqueles
17 animais que apresentavam folículos pequenos e médios (menor que 8 mm).

18 Nos animais ciclando não foi verificado aumento da taxa de concepção após o
19 tratamento com eCG.

20 Baruselli *et al.*, (2007), observaram que a realização da inseminação com sêmen
21 sexado 60 horas depois da retirada do implante vaginal, aumentou em até 9,0% a taxa
22 de concepção. Mais uma vez se justificando a aplicação da técnica de IATF e com
23 atraso do horário da inseminação.

1 Das 45 novilhas que não estavam prenhes no final do experimento, 36 tinham
2 repetido o estro e estavam inseminadas, nove estavam em “anestro”. Em março de 2015
3 retornei a fazenda. Das 45 vazias 29 já estavam com prenhez confirmada e 16 estavam
4 inseminadas aguardando exame. Nesse experimento houve um aumento da taxa de
5 serviço em função de uma maior atenção na observação de estro das novilhas, de forma
6 que muitas já tinham alcançado a puberdade antes de começar o experimento, apesar da
7 pouca idade (15 a 16 meses as mais novas do experimento).

8 O uso de sêmen sexado em novilhas apresenta além das vantagens econômicas,
9 a possibilidade de uma diminuição nos problemas no pós-parto, visto que bezerras
10 fêmeas menores diminuem os casos de partos distócicos e retenções.

11 **6. CONCLUSÃO**

12 A taxa de prenhez atingida neste experimento com sêmen sexado através da
13 inseminação artificial em tempo fixo foi semelhante a média obtida com sêmen
14 convencional em novilhas em outros experimentos. Uma triagem dos ovários das
15 novilhas através da ultrassonografia antes de se iniciar o protocolo de IATF é de
16 fundamental importância, as novilhas cíclicas (com CL), dos três grupos tiveram a
17 mesma taxa de prenhez, através deste exame direcionaremos os tratamentos de forma
18 racional, diminuindo os custos e melhorando os índices.

19 Uma avaliação da fertilidade do sêmen dos touros devem ser
20 consideradas, pois podem contribuir na diminuição dos custos e no aumento da taxa de
21 prenhez.

22 Os resultados aqui obtidos indicam que o eCG teve um efeito positivo apenas em
23 animais sem corpo lúteo. Em animais que apresentam corpo lúteo o tratamento com
24 eCG é desnecessário.

1 Com a utilização dos métodos de sincronização do estro e ovulação, esperamos
2 determinar o protocolo mais eficiente e minimizar as variações do momento de
3 ovulação, colaborando com a eficiência dos programas de inseminação artificial com
4 sêmen sexado. De modo que o atraso na inseminação artificial parece uma alternativa
5 viável para melhorar os resultados de taxa de prenhez.

6 **7. AGRADECIMENTOS**

7 Ao Senhor Gilson Andrade Pessoa, por ceder os animais para o experimento, à
8 UFRPE, à Clínica de Bovinos de Garanhuns, à FACEPE, à CAPES.

9

10 **8. REFERÊNCIAS**

11 ASBIA. Associação Brasileira de Inseminação Artificial. **Relatório estatístico de**
12 **produção, importação e comercialização de sêmen.** 2013. Disponível em:
13 <http://www.asbia.org.br/novo/upload/mercado/index2013.pdf>. Acesso em
14 02/02/2015.

15 ASBIA. Associação Brasileira de Inseminação Artificial. **Relatório estatístico de**
16 **produção, importação e comercialização de sêmen.** 2011. Disponível em:
17 <http://www.asbia.org.br/novo/upload/mercado/relatorio2011.pdf>. Acesso em
18 26/11/2014.

19 BARBOSA, L. P.; MENEZES, D. S.; FARIA, E. F. S.; WICKE, A. A.; OLIVEIRA, R.
20 L.; BAGALDO, A. R.; NETO, B. M. C.; DUTRA, P. A. Inseminação artificial em
21 tempo fixo utilizando sêmen sexado em novilhas leiteiras. **Magistra**, Bahia, v. 23, n. 3,
22 p. 75-153, 2011.

- 1 BARUSELLI, P. S.; REIS, E.L.; MARQUES, M.O.; NASSER, L.F.; BÓ, G.A. The use
2 of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in
3 tropical climates. **Animal Reproduction Science**. v. 82, p.479–486, 2004.
- 4 BARUSELLI, P.S.; MARTINS, C.M.; REIS, P.O.; AYRES, H.; FERREIRA, R.M.;
5 SALES, J.N.S.; CREPALDI, G.A. Produção de embriões de vacas Nelore (*Bos indicus*)
6 inseminadas em tempo fixo com sêmen sexado. **Acta Scientiae Veterinariae**. v. 36, p.
7 443448, 2008.
- 8 BARUSELLI, P.S.; SOUZA, A.H.; MARTINS, C.M.; GIMENES, L.U.; SALES,
9 J.N.S.; AYRES, H.; ANDRADE, A.F.C.; RAPHAEL, C.F.; ARRUDA, R.P. Sêmen
10 sexado: inseminação artificial e transferência de embriões. **Revista Brasileira de**
11 **Reprodução Animal**. v. 31, n. 3, p. 374-381, 2007.
- 12 BEAL, W.E.; PERRY, R.C.; CORAH, L.R. The use of ultrasound in monitoring
13 reproductive physiology of beef cattle. **Journal of Animal Science**. v.70, p.924-929,
14 1992.
- 15 BODMER, M.; JANETT, F.; HÄSSIG, M.; DES DAAS, N.; REICHERT, P.; THUN,
16 R. Fertility in heifers and cows after low dose insemination with sex-sorted and non-
17 sorted sperm under field conditions. **Theriogenology**, v. 64, p. 1647-1655, 2005.
- 18 COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. **Manual para exame**
19 **andrológico e avaliação de sêmen animal**. 2. ed. Belo Horizonte. CBRA. p.11-
20 17,1998.
- 21 DEJARNETTE, J.M.; McCLEARY, C.R.; LEACH, M.A.; MORENO, J.F.; NEBEL,
22 R.L.; MARSHALL, C.E. Effects of 2.1 and 3.5×10^6 sex-sorted sperm dosages on
23 conception rates of Holstein cows and heifers. **Journal of Dairy Science**. v. 93, n. 9, p.
24 4079-4085, 2010.

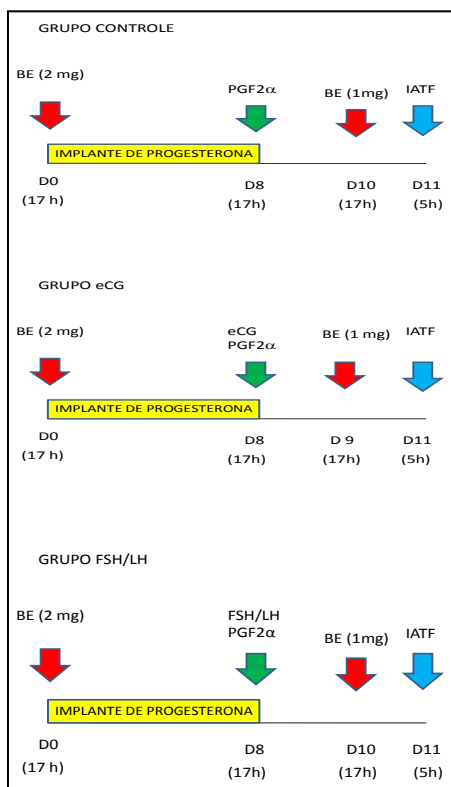
- 1 FORTUNE, J.E, RIVERA, G.M.; EVANS, A.C.O.; TURZILLO, A.M. Differentiation
2 of dominant versus subordinate follicles in cattle. **Biology of Reproduction.** v.65,
3 p.648-654, 2001.
- 4 GINTHER, O.J.; BERGFELT, D.R.; BEG, M.A.; KOT, K. Follicle Selection in Cattle:
5 Role of Luteinizing Hormone. **Biology of Reproduction.** v.64, p.197-205, 2001.
- 6 GINTHER, O.J. **Ultrasound imaging and reproductive events in the mare.** Madison.
7 EquiServices. 1986, 377p. GÓRECKA, A.; JEZIEŃSKI, T. Z, A. J.; SŁONIEWSKI, K.
8 Relationships between
- 9 LU KH, SEIDEL JR GE. Effects of heparin and sperm concentration on cleavage rates
10 of bovine oocytes inseminated with flow-cytometrically-sorted bovine sperm.
11 **Theriogenology.** v.62, p.819-830.2004;
- 12 SÁ FILHO, MF.; AYRES, H.; FERREIRA, RM.; MARQUES, MO.; REIS, EL.; SILVA,
13 RCP.; RODRIGUES, CA.; MADUREIRA, EH.; BÓ, GA.; BARUSELLI, PS. **Equine**
14 chorionic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone enhance fertility in a
15 norgestomet-based, timed artificial insemination protocol in suckled Nelore (*Bos*
16 *indicus*) cows. **Theriogenology.** v.73, p.651-658, 2010a.
- 17 SAACKE, R.J. Insemination factors associated with timed AI in cattle.
18 **Theriogenology.**2008.
- 19 SCHENK, J.L.; SUH, T.K.; CRAN, D.G. et al. Cryopreservation of flow-sorted bovine
20 spermatozoa. **Theriogenology,** v.52, n.8, p.1375-93, 1999.
- 21 SOUZA, AH.; VIECHNIESKI, S.; LIMA, FA.; SILVA, F.F.; ARAÚJO, R.; BÓ,
22 GA.; WILTBANK, M.C.; BARUSELLI, PS. Effects of equine chorionic gonadotropin
23 and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses in
24 dairy cows. **Theriogenology.** v.72, p.10-21, 2009.

1 SOUZA, AH.;MARTINS, CM.; TORRES,JR .; AYRES, H.; BARUSELLI, PS. Efeito
 2 do eCG e do cipionato de estradiol em protocolos para inseminação artificial em tempo
 3 fixo em vacas Holandesas de alta produção. **Acta Scientiae Veterinariae**. v.34, p.404,
 4 2006 (resumo).

5 VASCONCELOS, J.L.M.; MENEGHETTI, M.; SANTOS, R.M. Inseminação artificial
 6 em tempo fixo (IATF) em bovinos. **Acta Scientiae Veterinariae**. v.34, (supl.1) p.9-16,
 7 2006.

8 **9. ILUSTRAÇÕES**

9 Figura 1. Protocolos de IATF



10 Figura 2. Valores para Análise Computadorizada do Movimento Espermático.

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

AVERAGE VALUES OF VELOCITY PARAMETERS						
		Total	Slow	Medium	Rapid	Unit
Curvilinear Velocity	VCL	81,0	11,9	21,4	116,1	µm/s
Straight-line Velocity	VSL	41,2	1,9	10,7	57,1	µm/s
Average Path Velocity	VAP	51,8	4,2	13,7	72,3	µm/s
Linearity	LIN	50,8	16,1	49,8	49,2	%
Straightness	STR	79,4	45,7	77,9	79,0	%
Wobble	WOB	64,0	35,2	64,0	62,3	%

AVERAGE VALUES OF OTHER PARAMETERS					
		Total	Medium Progr.	Rapid Progr.	Unit
Amplitude of lateral head displacement	ALH	3,3	0,9	4,0	µm
Beat/Cross Frequency	BCF	12,3	4,9	13,6	Hz

	Total	Percentage [%]	CONCENTRATION	
Hyperactive	17	7,0%	millions per ml	in total ejaculated
			0,7	1,9

25 Figura 3. Média Anual da precipitação e temperatura do município de Ielmo Marinho/RN. Fonte: Climate-data.org.

month	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
mm	35	70	130	160	123	122	107	49	24	8	8	16
°C	26.9	26.8	26.6	26.0	25.4	24.4	23.8	24.0	24.7	25.6	26.2	26.5
°C (min)	22.1	22.1	22.1	21.7	21.2	20.3	19.6	19.4	19.8	20.4	21.0	21.5
°C (max)	31.7	31.6	31.2	30.4	29.6	28.5	28.1	28.6	29.7	30.9	31.4	31.5



26 Figura 4. Mapa do Rio Grande do Norte. Fonte: Wikipédia

1 Tabela 1. Taxa de prenhez de novilhas Girolando de acordo com o tratamento utilizado
2 na IATF com sêmen sexado.

3 4 5	Tratamento	Prenhez			%Prenhez
		Positiva	Negativa	Total	
	Controle	4	17	21	19
	FSH/LH	6	15	21	28
	Ecg	7	13	20	35

6 $\chi^2 = 1,3301$ ($P > 0,05$)

7 Tabela 2. Taxa de prenhez de novilhas Girolando cíclicas (com CL) de acordo com o
8 tratamento utilizado na IATF com sêmen sexado.

9 10 11	Tratamento	Prenhez			%Prenhez
		Positiva	Negativa	Total	
	Controle	4	10	14	28,6
	FSH/LH	6	14	20	30
	eCG	4	9	13	30,7

12 $\chi^2 = 0,10$ ($P > 0,05$)

13

14 Tabela 3. Comparação dos Custos e Receitas entre Sêmen Sexado e Convencional.

15		Sexado	Convencional
16	Custo Sêmen	R\$56,00	R\$25,00
	Custo Protocolo	R\$14,94	R\$14,94
17	Custo 100 IATF	R\$7.094,00	R\$3.940,00
18	Custo da Prenhez	R\$202,00	R\$78,80
	Taxa de prenhez	35%	50%
19	Valor das Novilhas	105.000,00	R\$75.000,00
20	Valor dos bezeros	-	R\$2.500,00
	Receita	R\$97.960,00	R\$73.560,00
21	Diferença	R\$24.346,00	

22

23 Protocolo com P4, BE e PGF2 α , sem eCG e FSH/LH

ASSOCIAÇÃO DE ENSINO E CULTURA PIO DÉCIMO
FACULDADE PIO DÉCIMO



**FACULDADE
PIO DÉCIMO**

Comissão de Bioética

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "AVALIAÇÃO DA IATF EM NOVILHAS GIROLANDO UTILIZANDO-SE DIFERENTES PROTOCOLOS COM SÊMEN SEXADO", protocolo nº 28/2012, utilizando 60 (sessenta) novilhas, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Gustavo Ferrer Carneiro, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade Pio Décimo e foi aprovado em reunião do dia 20/12/2012.

(We certify that the Research "ASSESSMENT IN TAI HEIFERS GIROLANDO USING UP WITH DIFFERENT PROTOCOLS SEXED SEMEN", protocol number 28/2012, utilizing 60 (sixty) heifers, under the responsibility of Prof. Dr. Gustavo Ferrer Carneiro, conforms to the ethical principles of animal experimentation of the Committee on Bioethics of Faculty Pio Tenth and was approved in a meeting held on 20.12.2012).

Aracaju, 21 de dezembro de 2012.


 Prof. Dr. Emerson Israel Mendes
 Presidente da Comissão de Bioética
 Faculdade Pio Décimo

