UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
CENTRO DE CIÊNCIAS MÉDICAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

BRUNA TEIXEIRA GERHARDT

EFICIÊNCIA DO SÊMEN SEXADO E CONVENCIONAL EM FÊMES MESTIÇAS LEITEIRAS

NITERÓI
2010

Livros Grátis

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

BRUNA TEIXEIRA GERHARDT

EFICIÊNCIA DO SÊMEN SEXADO E CONVENCIONAL EM FÊMES MESTIÇAS LEITEIRAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre. Área de concentração: Clínica e Reprodução animal.

Orientador: Prof. Dr. LUIZ ALTAMIRO GARCIA NOGUEIRA

Co-orientador: Prof. PEDRO AFONSO MOREIRA ALVES

Niterói
2010

BRUNA TEIXEIRA GERHARDT

EFICIÊNCIA DO SÊMEN SEXADO E CONVENCIONAL EM FÊMES MESTIÇAS LEITEIRAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre. Área de concentração: Clínica e Reprodução animal.

BANCA EXAMINADORA:

Dr. LUIZ ALTAMIRO GARCIA NOGUEIRA
Universidade Federal Fluminense (UFF)

Dr. MARCO ROBERTO DE BOURG MELLO
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ)

Dr. JOSÉ ANTONIO SILVA RIBAS
Universidade Federal Fluminense (UFF)

Dr. DANIEL FABIO SALVADOR
Fundação Centro de Ciências e Educação Superior a Distância do Estado do Rio de Janeiro (CEDERJ)

Niterói
2010

AGRADECIMENTOS

Ao amigo, pai veterinário e professor Pedro Afonso Moreira Alves por tudo: pelos ensinamentos acadêmicos e de vida, pela confiança e pelo apoio incondicional.

Ao professor Luiz Altamiro pelos ensinamentos, paciência, carinho, compreensão e amizade.

Ao professor Rodolpho de Almeida T. Filho pelos conhecimentos estatísticos, pelo tempo disponibilizado para ajudar na confecção deste trabalho, além da paciência e bom humor.

À amiga Letícia Del-Penho pela contribuição na realização deste trabalho.

Ao meu companheiro Fernando pela paciência e compreensão em todos os momentos de ausência e pelo amor e incentivo a este trabalho.

À minha família, que além de ter sido fundamental para minha formação ainda tornou mais amena possível a minha jornada.

Aos meus amigos, que sempre me deram força para seguir em frente.

À PESAGRO pelo apoio financeiro e estrutural para realização deste trabalho.

Aos funcionários da PESAGRO que se dedicaram a esse experimento, em especial ao Adarley e Paulinho.

Aos Professores da pós-graduação da Universidade Federal Fluminense pelos ensinamentos e sugestões que contribuíram para a realização deste trabalho.

À médica veterinária Julia, sem sua ajuda este trabalho não seria completo.

À médica veterinária Carla Fernanda Paranhos de Moura Carvalho pelos ensinamentos em ultra-sonografia, paciência e contribuição para a realização deste trabalho.

À graduanda e amiga Natasha pela ajuda na formatação deste trabaho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo suporte ao meu trabalho.

A todos aqueles que contribuíram para realização deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES, p. 7

LISTA DE TABELAS, p. 8

RESUMO, p. 9

ABSTRACT, p. 10

1 INTRODUÇÃO, p. 11

2 REVISÃO DE LITERATURA, p. 13

2.1 EFICIÊNCIA REPRODUTIVA, p. 13

2.2 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL, p. 14

2.2.1 Definição e Histórico, p. 14

2.2.2 Vantagens, p. 14

2.2.3 Implantação da IA, p. 15

2.2.4 Momento ideal da IA, p. 15

2.3 SEXAGEM DO SÊMEN, p. 16

2.3.1 Técnica de Sexagem, p. 17

2.3.2 Situação atual, p. 17

2.3.3 Citometria de fluxo, p. 18

2.3.4 Concentação espermática por dose inseminante, p. 19

2.4 TAXA DE CONCEPÇÃO, p. 20

2.5 INJURIAS CAUSADAS PELO PROCESSO DE SEXAGEM, p. 20

2.6 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL COM SÊMEN SEXADO, p. 21

3 MATERIAL E MÉTODOS, p. 24

3.1 LOCAL, CLIMA, PASTAGENS E CONTROLE SANITÁRIO DO REBANHO, p. 24

3.2 EXAMES REALIZADOS, CONDIÇÃO CORPORAL E MANEJO REPRODUTIVO, p. 24

3.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL, p. 25
3.4 EXPERIMENTO I, p. 25
3.4.1 Animais e grupos experimentais, p. 25
3.4.2 Metodologia Experimental, p. 26
3.4.2.1 Observação de cio, p. 26
3.4.2.2 Inseminação Artificial, p. 26
3.4.2.3 Diagnóstico de gestação, p. 26
3.5 Análise Estatística, p. 26
3.6 EXPERIMENTO II, P. 27
3.6.1 Animais e grupos experimentais, p. 27
3.6.2 Metodologia Experimental, p. 27
3.6.2.1 Observação de cio, p. 27
3.6.2.2 Inseminação Artificial, p. 27
3.6.2.3 Diagnóstico de gestação e sexagem fetal, p. 28
3.6.3 Análise Estatística, p. 28
4 RESULTADO E DISCUSSÃO, p. 30
4.1 EXPERIMENTO I, p. 30
4.1.1 Análise do sêmen, p. 30
4.1.2 Fertilidade das pluríparas e nulíparas, p. 30
4.1.3 Taxa de gestação à primeira inseminação artificial, p. 31
4.1.4 Relação custo benefício da utilização do sêmen sexado, p. 33
4.2 EXPERIMENTO II, p. 34
4.2.1 Taxa de gestação com a utilização do sêmen sexado de acordo com a ordem de parição, p. 34
4.2.2 Taxa de gestação com a utilização do sêmen sexado de acordo com o grau de sangue, p. 34
4.2.3 Taxa de gestação por horário de inseminação, p. 35
4.2.4 Resultado da sexagem fetal, p. 37
4.2.5 Relação custo benefício da utilização do sêmen sexado, p. 37
5 CONCLUSÕES, p. 38
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS, p. 39

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 Momento da ovulação em bovinos. Fonte: VANZIN, 2009, p. 17

Figura 2 Citômetro de fluxo. Fonte: Depto. Técnico de ABS Argentina (2007), p. 20

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Categoria e número de animais inseminados com sêmen convencional (G1) ou sexado (G2), p. 28

Tabela 2 - Categoria e número de animais inseminados no horário 12 horas (G3) e no horário 15 horas (G4), p. 29

Tabela 3 - Grau de sangue e número de animais inseminados no horário 12 horas (G3) e no horário 15 horas (G4), p. 30

Tabela 4 - Categoria animal e percentual de gestantes ou não, p. 31

Tabela 5 - Taxa de fertilidade entre tipo de sêmen, p. 32

Tabela 6 - Avaliação da produção de uma bezerra em cada grupo, p. 34

Tabela 7 - Percentual de gestação por ordem de parição, p. 35

Tabela 8 - Percentual de gestação por grau de sangue, p. 36

Tabela 9 - Taxa de gestação por horário de inseminação, p. 36

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a taxa de gestação e a viabilidade econômica com uso do sêmen sexado em diferentes situações. O experimento foi conduzido na Estação Experimental Seropédica da Pesagro-RJ. Foram utilizadas 109 fêmeas mestiças leiteiras holandesas com grau de sangue variando de 1/4 a 7/8 Holandês. Nulíparas com peso acima de 320 kg e vacas que encerraram a lactação antes da estação de monta, ambas com escore corporal entre 2,5 e 4 (escala de 1 a 5). Os animais passaram por exame ginecológico minucioso para selecionar os aptos sem patologias reprodutivas ou gestação.A metodologia experimental consistiu da observação de cio e as inseminações artificiais ocorreram de acordo com cada tratamento, e 11 dias após inicio do experimento as fêmeas que não apresentaram cio receberam meia dose de cloprostenol sódico intramuscular e seguiu-se a observação do cio. Este trabalho foi dividido em duas etapas e para estas utilizou-se o sêmen sexado ou convencional de um mesmo touro. Os resultados obtidos foram tabulados em planilha do Excel e verificada a significância estatística através do teste do qui-quadrado em nível de 5% de probabilidade. A primeira ocorreu de janeiro a abril de 2008 e foram comparadas as taxas de gestação com sêmen sexado e convencional. Nesta etapa, os animais que apresentaram cio receberam meia dose de acetato de fertirelina (GnRH) e foram inseminados 12 horas após, com sêmen convencional ou sexado de escolha aleatória . As taxas de gestações obtidas no experimento I, comparando as fêmeas inseminadas com sêmen convencional e sexado foram 53,85 e 17,86% respectivamente ($p<0,05$). Na segunda etapa, de janeiro a abril de 2009, foram comparadas as taxas de gestação com sêmen sexado utilizando dois horários de inseminação (Tradicional – 12 horas após observação do cio e Atrasada – 15 horas após) de escolha aleatória, mantendo uma proporção exata entre os 2 grupos. As taxas de gestação obtidas no experimento II, nas fêmeas inseminadas 12h após a observação do cio e 15h após foram 37,04 e 50,00% respectivamente ($p>0,05$). Conclui-se que, observando critérios como a manipulação precisa, seleção adequada dos animais e o atraso nas inseminações o sêmen sexado pode apresentar resultados semelhantes ao convencional.

Palavras-chave: Sêmen Sexado Bovino; Horário de Inseminação Artificial; Taxa de Gestação

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the pregnancy rate and the economic viability of the use of sexed semen. The experiment was conducted at Experimental Station Seropedica of Pesagro-RJ. Dairy crossbred females with genetic groups varying from 1/4 to 7/8 Holstein blood were used. Heifers weighting over 320kg and cows that ended lactation before the mounting season, both with body condition between 2,5 and 4,0 (on a scale from 1 to 5). The animals underwent thorough gynecological examination to select the suitable without reproductive diseases or pregnancy. The experimental methodology consisted of estrus detection of the animals every 3 hours for 30 minutes daily, and 11 days after the beginning of the experiment the females who have not exhibit the estrus received half dose of cloprostenol injection and was followed by the observation of the estrus. This work was divided in two trials: the first occurred from January to March 2008 and were compared pregnancy rates with sexed semen and conventional from the same bull. On this stage, animals in estrus received half dose of fertirelin acetate (GnRH) and were inseminated 12 hours later, randomly, with conventional and sexed semen. The results were tabulated in Excel spreadsheet and checked for statistical significance by the chi-square at 5% level of probability. Pregnancy rates obtained in the experiment I, comparing the females inseminated with conventional and sexed semen, were 53.85 and 17.86% respectively ($p < 0.05$). In the second trial, from January to March 2009, were compared pregnancy rates with sexed semen using two different times of insemination (Traditional - 12 hours after estrus detection and Late - 15 hours after) randomly, maintaining an exact proportion between the 2 groups. Statistical analysis were done by chi-square at 5% level of probability. Pregnancy rates obtained in experiment II, females inseminated 12 hours after estrus detection and 15h after, were 37.04 and 50.00% respectively ($p > 0.05$). It follows that, observing criteria such as the precise handling, selection of the animals and the delay in insemination with sexed semen can produce similar results to the ones obtained using conventional semen.

Keywords: Sexed Semen; Time Artificial Insemination; Pregnancy Rate

1 INTRODUÇÃO

A inseminação artificial é a biotecnologia da reprodução mais importante e utilizada visando o melhoramento genético, pois um macho é capaz de fertilizar centenas de fêmeas por ano, ao passo que poucos produtos podem ser obtidos de uma só fêmea ao longo de um ano, mesmo com a utilização de novas tecnologias como a transferência de embrião e a fecundação *in vitro* (AX et al., 2000).

O Brasil possui o maior rebanho comercial do mundo, aproximadamente 204,512 milhões de cabeças (IBGE, 2004), e o mestiço Holandês- Zebu é responsável por 80 % do leite produzido no Brasil. O País tem como principal forma de criação bovina o sistema extensivo com pastos deficientes de sombras e um verão muito rigoroso. Animais azebuados são muito utilizados e disseminados no Brasil devido as suas características fisiológicas e morfológicas perfeitas para a produção nos trópicos (capacidade e suporte de úbere, tamanho de tetas, fatores intrínsecos à lactação, pigmentação, capacidade termo-reguladora, aprumos e pés fortes, conversão alimentar, eficiência reprodutiva, entre outras.). Desta forma, atribuindo a estes animais um desempenho muito satisfatório economicamente.

Na criação de bovinos de leite, o sexo do bezerro é um dos fatores determinantes para o desempenho do agronegócio, pois é desejável o nascimento de fêmeas, tendo os machos pouco valor comercial (BARUSELLI et al., 2007). A utilização de biotecnologias como a utilização da sexagem espermática pode viabilizar a inseminação artificial em muitos sistemas de produção na pecuária leiteira.

A técnica desenvolvida para sexagem de sêmen que vem sendo mais utilizada no mundo e com melhores respostas é a que utiliza o citômetro de fluxo (RATH e JOHNSON, 2008). Essa técnica foi desenvolvida pelo Dr. Larry A. Johnson no ano de 1992 em Beltsville USDA Agricultural Research Center e está patentiada e

licenciada exclusivamente no mundo todo para mamíferos não humanos por uma empresa privada, a XY Inc. (GARNER e SEIDEL Jr, 2008; LÓPEZ, 2005).

A técnica que usa a citometria de fluxo tem como fundamento a separação dos espermatozóides pela diferença do conteúdo do DNA dessas células (espermatozóide X possui 3,8% mais material genético que o espermatozóide Y). O citômetro de fluxo emite um feixe de raios laser que promove fluorescência das células espermáticas previamente coradas, permitindo a separação dos espermatozóides X e Y com membrana celular íntegra (BARUSELLI et al., 2007; DUARTE, 2007).

O sêmen sexado está disponível comercialmente no Brasil desde 2004, possibilitando escolher o sexo da cria com acuidade mínima de 85% (RATH e JOHNSON, 2008). A utilização do sêmen sexado traz inúmeras vantagens, como melhor programação das populações do rebanho, maior ganho na produção de carne e leite, facilidade em direcionar reposição de matrizes, ganhos genéticos e redução de tempo na seleção de plantéis, melhor direcionamento nos testes de progênie, entre outros (MEIRELLES et al., 2008; RATH e JOHNSON, 2008).

Para inseminação artificial em larga escala, com o sêmen sexado, ainda existem muitos obstáculos a serem vencidos, como o tempo de separação, viabilidade e número de espermatozóides por dose inseminante, além do custo desta (RUMPF, 2002).

O sêmen sexado causou significativo impacto econômico na pecuária leiteira ao potencializar o nascimento de fêmeas. A pecuária leiteira consumiu em 2007 quase 3,7 milhões de doses de sêmen, 27% a mais que 2006 (RODRIGUES, 2008).

Com esse crescente mercado de sêmen e com os obstáculos que essa técnica ainda possui, faz-se necessário um estudo econômico prévio antes de sua utilização, assim como pesquisas que viabilizem o aumento da taxa de gestação com a utilização desse sêmen, minimizando seu custo.

O objetivo desse trabalho foi avaliar a viabilidade de utilização do sêmen sexado, comparado ao sêmen convencional e testar estratégias de manejo que aumentem a taxa de concepção nas estações de monta.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 EFICIÊNCIA REPRODUTIVA

A inseminação artificial é a biotecnologia mais utilizada em rebanhos bovinos em todo o mundo. Sua importância para pecuária leiteira pode ser avaliada pelo fato de que se deve a ela todo o ganho em produção de leite, nos últimos 50 anos. Porém, no Brasil, o percentual de produtores que adotam a inseminação artificial em seus rebanhos ainda é limitado (VIANA e CAMARGO, 2008), somente 8% do rebanho leiteiro nacional utiliza IA (ASBIA, 2009).

Desde a introdução da inseminação artificial (IA) na década de 1940 e da descoberta da congelação de sêmen bovino os avanços tecnológicos têm influenciado fortemente a evolução da indústria leiteira (BLONDIN et al., 2009).

O desenvolvimento reprodutivo é responsável direto pelo melhoramento genético em rebanhos bovinos, baseado na seleção de indivíduos com maior desenvolvimento ponderal, aumentando também, a capacidade de conversão alimentar, a produção de leite por dia de vida útil da vaca, a disponibilidade de animais de reposição, precocidade e redução de custos (HUANCA, 2001; ARTUNDUAGA e VILELLA, 2007; BARUSELLI, 2007).

A distribuição e a multiplicação de material genético só são possíveis com adequado manejo e sem o comprometimento da eficiência reprodutiva do rebanho (BARUSELLI, 2007; HUANCA, 2001). Com esse intuito, várias biotecnologias ligadas à reprodução animal vêm sendo desenvolvidas e aprimoradas, visando o aproveitamento deste material genético para obtenção do maior número de descendentes, em um curto período de tempo. Seguindo a evolução das principais biotecnologias adotadas e trabalhadas no Brasil, é importante ressaltar, inicialmente o papel da IA, sendo a primeira biotecnologia adotada nos sistemas de produção

brasileiros que visa à multiplicação genética de touros de alto valor (RENESTO, 2004; LEÃO, 2003).

2.2 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL

2.2.1 Definição e Histórico

Entende-se por inseminação artificial a deposição mecânica do sêmen no aparelho reprodutivo da fêmea, visando à fecundação, ou seja, a união do espermatozóide com o óvulo e a formação de um novo ser naturalmente, sem a interferência do homem (ASBIA, 2007).

A primeira inseminação artificial foi realizada por Lazzaro Spallanzani em 1780, que inseminou uma cadela, desta nasceram três filhotes vivos e normais (LEÃO, 2003).

Em 1949, Poldge, Smith e Paker, pesquisadores ingleses, demonstraram que os espermatozóides podiam ser conservados a 5ºC por 96 horas; Início da criopreservação de SPTZ, que hoje, são mantidos a -196ºC por tempo indefinido (PALHANO, 2008).

No Brasil a inseminação começou em 1940 e atualmente, em média, 7% das fêmeas em idade reprodutiva são inseminadas, enquanto em Países desenvolvidos esse percentual pode chegar a 99% (ASBIA, 2009).

2.2.2 Vantagens

A inseminação artificial (IA) tem demonstrado amplamente sua contribuição para o melhoramento genético dos rebanhos leiteiros, sendo esta sua principal vantagem, e é inegável o grande impacto desta técnica sobre os índices de produção leiteira em diferentes partes do mundo, melhorando o retorno econômico na pecuária (HUANCA, 2001; MARQUES et al., 2008).

Outras inúmeras vantagens destacam-se, como: viabilizar a obtenção de produtos de reprodutores alojados em outros países ou até mesmo que já morreram, evitar a transmissão de doenças venéreas como a tricomonose e a campilobacteriose, reduzir o risco da introdução de doenças infecto-contagiosas, como brucelose, leptospirose e IBR, no rebanho, evitar os custos e riscos da manutenção de touros na propriedade, assim como os gastos periódicos na aquisição de novos reprodutores; permitir melhor controle da reprodução, agregar valor ao rebanho, facilitar a realização de testes de progênie (LEÃO, 2003; VIANA e CAMARGO, 2008).

2.2.3 Implantação da IA

A propriedade que visa à utilização da IA deve atender a alguns requisitos básicos para sua implantação, como a utilização de machos de boa qualidade, manejo sanitário e nutricional adequados, infra-estrutura para fácil acesso aos currais e troncos, nitidez na identificação dos animais e principalmente funcionários responsáveis e qualificados para realização do trabalho (MARQUES et al., 2008).

Os materiais necessários para uma correta inseminação artificial são: um botijão com nitrogênio líquido, sêmen de boa qualidade, luvas descartáveis, bainhas descartáveis, aplicador, termômetro, cortador de palhetas, pinça, tesoura, papel toalha ou higiênico, garrafa térmica, recipiente para descongelamento do sêmen ou descongelador eletrônico (ASBIA, 2007).

A utilização inadequada de qualquer um dos fatores mostrados acima pode acarretar em diminuição das taxas de gestação com a utilização da inseminação artificial, e em alguns casos até inviabilizar a técnica.

2.2.4 Momento ideal da IA

O momento ideal para inseminar a fêmea bovina se encontra ao final do estro ou no metaestro, quando a probabilidade de fecundação é maior devido à alta fertilidade da vaca. Este momento é caracterizado pela recusa da monta por parte da fêmea. A fêmea apresenta um período relativamente longo de maior fertilidade, algumas horas antes e após o término do cio (VANZIN, 2009).

A ovulação nos bovinos ocorre aproximadamente 30 horas após o início do cio, 24 horas após o pico pré-ovulatório de LH e 12 horas após o final do estro. A inseminação artificial objetiva a fertilização do oócito, portanto, é essencial que ela deva ser realizada de maneira à melhor favorecer o seu encontro com os espermatozóides (LEÃO, 2003) (Figura 1).

Um método prático e com ótimos resultados foi o proposto por Trimberger (1948), neste, vacas em cio pela manhã deverão ser inseminadas na tarde do mesmo dia e vacas observadas em cio à tarde devem ser inseminadas no início da manhã seguinte (ASBIA, 2007; VANZIN, 2009).

Recomendam-se duas ou mais observações diárias do cio; uma no início da manhã e outra no final da tarde, durante no mínimo 60 minutos cada. As vacas que estiverem no cio

devem ser separadas ou ter sua identificação anotada para posterior inseminação (PALHANO et al., 2008).

Novos avanços vêm sendo agregados a esta biotécnica, com vistas à melhoria do que atualmente se utiliza, como os protocolos de sincronização e o sêmen sexado (MEIRELLES, 2008).

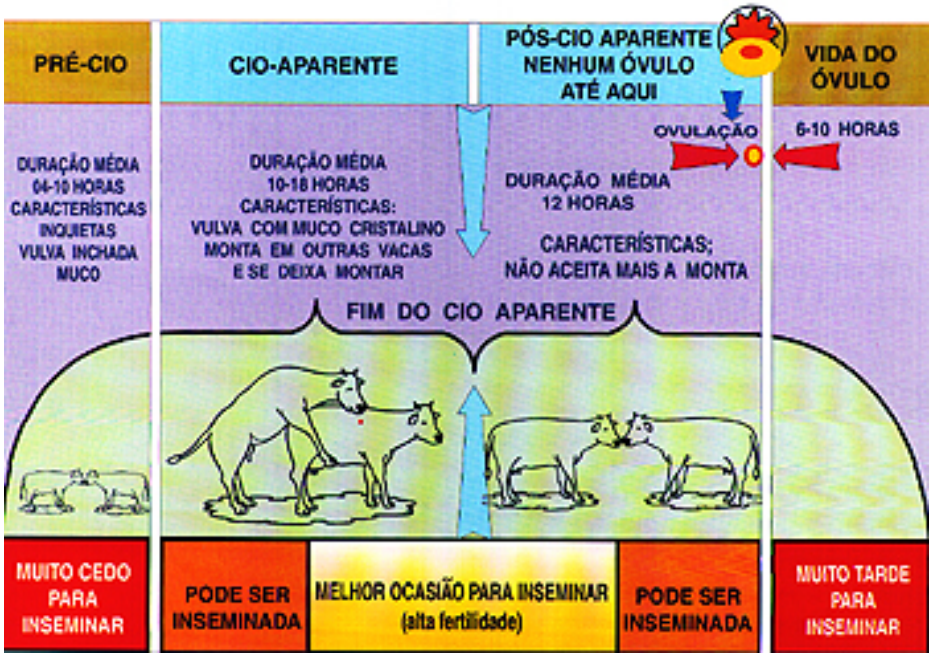

Figura 1 - Momento da ovulação em bovinos. Fonte: VANZIN, 2009.

2.3 SEXAGEM DO SÊMEN

Quem sempre determinará o sexo do embrião mamífero, será o espermatozóide (SPTZ), pois este pode conter um cromossomo “X” ou um “Y”. Já o óvulo sempre terá o cromossomo “X”. Portanto para se produzir uma fêmea (XX) o óvulo deverá ser fertilizado pelo SPTZ “X”, e para produção de um macho (XY) o óvulo deverá ser fertilizado por um SPTZ “Y”. A metade dos SPTZ produzidos pelos machos é “X” e a outra metade “Y” (LÓPEZ, 2005).

Hoje em dia o desejo de que nasçam somente fêmeas de melhor qualidade, na produção leiteira, é uma realidade cada vez mais acessível e ágil (PITOMBO, 2007).

Raramente a proporção ao nascimento de machos e fêmeas é igual a 50% de cada sexo e existem vários métodos para modificar esta proporção. A razão sexual normal ao nascimento, em bovinos, é de aproximadamente 51 machos para 49 fêmeas na maioria dos

casos. Comumente existem mais mortes neonatais e pré-desmames em machos (MORRI et al., 1986 apud GEORGE e SEIDEL, 2008) e, desta forma, existe uma maior proporção de fêmeas em idade reprodutiva (GEORGE e SEIDEL, 2008).

2.3.1 Técnicas de sexagem

As principais técnicas utilizadas para separar os espermatozóides Y e X se baseiam nas diferenças físicas e/ou químicas existentes entre ambas populações celulares. Das técnicas analisadas (imunológicas, eletroforéticas, de motilidade em meios viscosos, centrifugação em gradientes de densidade, entre outras), a citometria de fluxo é a mais promissora, devido ao alto grau de precisão de detecção e a viabilidade dos espermatozóides submetidos ao processo de separação (ALMEIDA e ALVAREZ, 2003a; LAUTERBACH, 2005; GARNER e SEIDEL, 2008).

Assim as perdas ocorridas com o nascimento de machos (50%) serão reduzidas e a produção de leite poderá aumentar devido à seleção genética exercida sobre as fêmeas (pressão de seleção) (ALMEIDA e ALVAREZ, 2003a).

2.3.2 Situação atual

A inseminação artificial com sêmen sexado deveria ser o método ideal para se escolher o sexo dos bovinos, devido a sua simplicidade (ALMEIDA e ALVAREZ, 2003b). De acordo com a pesquisadora Vera Hossepian de Lima (2007), a inseminação cresceu 350% nos últimos dez anos no Brasil. E dados da Asbia (2009) mostram que ao final de 2008 o Brasil alcançou mais de 8 milhões de inseminações.

Esse crescimento expressivo se deu pelo aumento dos rebanhos submetidos a programas de melhoramento genético e cruzamento industrial. E é o que justifica o grande interesse na sexagem de espermatozóides por parte das centrais de inseminação bovina que operam no Brasil (LAUTERBACH, 2005).

A empresa Sexing Technologies já apresentava mais de 20 citômetros de fluxo que operam na América do Norte, e agora expandiu para mais de 50 máquinas em numerosas localidades, na America do Norte, América do Sul, Europa e outras partes do mundo (RATH e JOHNSON, 2008).

Estes desenvolvimentos recentes sugerem que os espermatozóides sexados bovinos em breve estarão disponíveis para a maioria dos produtores de gado de todo o mundo. Embora

seja uma inovação de fundamental importância, ainda ocorre à preocupação relatada com a menor fertilidade do sêmen sexado (BLONDIN et al., 2009).

2.3.3 Citometria de fluxo

Atualmente a separação dos espermatozóides "machos" (cromossomo Y) dos espermatozóides "fêmeas" (cromossomo X) ocorre devido às diferenças no conteúdo do DNA dessas células (espermatozóide fêmea possui aproximadamente 4% mais material genético que o espermatozóide macho) (BARUSELLI et al., 2007).

Após a coleta do sêmen os espermatozóides são corados pelo bisbenzimidazol, Hoechst 33342, que se fixa de maneira específica no DNA em uma hora, a 37ºC (LU e SEIDEL, 2004). Os espermatozóides tingidos emitem uma fluorescência azul brilhante, quando exposto a um raio laser que opera em luz ultravioleta de onda curta (GUTHRIE et al., 2002), sendo que o espermatozóide X emite uma maior fluorescência que o Y, pois possui mais conteúdo de DNA (BARUSELLI et al., 2007). Esta diferença na emissão de fluorescência pode ser medida por um tubo fotomultiplicador (PMT), integrado a um computador potente, que determina o conteúdo de DNA da maioria dos espermatozóides, mas não de todos, a medida que estes passam pelo PMT em uma corrente de fluido (GARNE e SEIDEL, 2000). À medida que esta sai pela extremidade inferior do classificador, este vibra a alta freqüência formando gotas individuais, a uma taxa de 90.000/segundo (GARNER e SEIDEL, 2000).

Apesar de nem todas as gotas conterem espermatozóides, as que contêm, passam a ter uma carga positiva ou negativa. As gotas que apresentarem mais de um espermatozóide, ou que não contenham espermatozóides ou que estes estejam mortos, não recebem carga nenhuma, permitido a eliminação destas células, sendo estas direcionadas para um tubo coletor (GARNER e SEIDEL, 2000).

Os espermatozóides X que receberam carga positiva serão desviados por uma placa de carga oposta para outro tubo coletor, e as gotas contendo espermatozóide Y que receberam carga negativa serão simultaneamente desviadas para outro tubo coletor (GARNER e SEIDEL, 2000) (figura2).

Esta técnica permite sexar e coletar 40% dos espermatozóides que passam pelo selecionador a uma velocidade de separação relativamente lenta, aproximadamente 3.000 a 4.000 células por minuto para cada sexo. Desta forma, para a maior eficiência do processo, a dose de sêmen normalmente utilizada é de aproximadamente de $2x10^6$ sptz/palheta e com essa técnica é

possível obter um mínimo de 85% de acurácia, para se obter o sexo desejado (BARUSELLI et al., 2007).

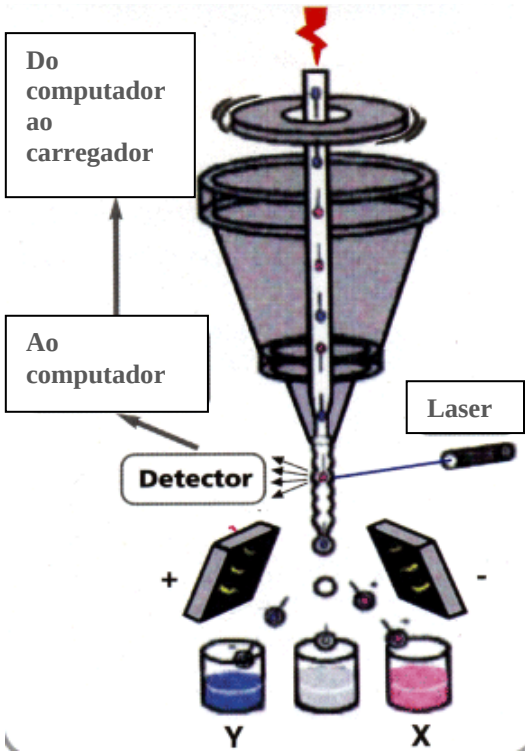

Figura 2 - Citômetro de fluxo. Fonte adaptada: Depto. Técnico da ABS Argentina, 2007.

2.3.4 Concentração espermática por dose inseminante

Em relação à dose inseminante Garner e Seidel (2008), acreditam que a partir de uma perspectiva comercial, para inseminação artificial em novilhas com sêmen congelado e sexado a dose ideal é de dois milhões de espermatozóides. A dose de um milhão de espermatozóides resulta claramente em decréscimo na taxa de prenhez (SEIDEL e SCHENK, 2008), e o aumento no número espermático para três ou até mesmo seis milhões de espermatozóides congelados e sexados por dose não aumenta a taxa de prenhez quando comparado com a dose de dois milhões na maior parte dos ensaios.

2.4 TAXAS DE CONCEPÇÃO

A taxa de concepção com inseminação artificial convencional citado por Artunduaga e Vilella (2007), em rebanhos comerciais de gado de leite é em média de 35 a 40% em vacas multíparas em comparação a 50% em vacas de primeira lactação e geralmente maior em novilhas (65%). Essas diferenças mostram que a concepção dos animais vai caindo a cada parto até que as vacas alcancem a idade adulta.

Segundo López (2005) e Garner e Seidel (2008), hoje a citometria de fluxo é a única técnica que permite de forma confiável alcançar um mínimo de 50% de prenhez e uma segurança do sexo escolhido maior que 90%.

A fertilidade dos espermatozóides sexados pela técnica de citometria de fluxo é reduzida, especialmente quando resfriados ou congelados (KLINC et al., 2007). Nos últimos anos, tem sido evidenciado que a citometria de fluxo para sexagem de espermatozóides dos mamíferos é possível com elevado grau de pureza e repetibilidade. No entanto, a qualidade e a longevidade dos espermatozóides sexados ainda é limitada (SEIDEL et al. 1999; HOLLINSHEAD et al., 2002).

De acordo com López (2005) e Amaral (2007), atualmente busca-se testar a taxa de concepção após o uso de sêmen sexado em vacas de leite. Em geral, com o uso deste a média de gestação é de 15 a 20% menor do que com o sêmen convencional. Segundo Garner e Seidel (2008), com doses de sêmen sexado de dois milhões de espermatozóides, às taxa de gestação é cerca de 20 a 30% inferior as taxas dos animais inseminados com doses normais de sêmen não sexado de um mesmo touro dentro de um mesmo rebanho.

2.5 INJÚRIAS CAUSADAS PELO PROCESSO DE SEXAGEM

Os espermatozóides dos mamíferos após a ejaculação não são capazes de fecundar os oócitos, e para que o espermatozóide se torne apto a fecundar é necessário que ele passe pelo processo de capacitação (SOUSA, 2003).

Capacitação espermática consiste nas alterações fisiológicas que ocorrem com os espermatozóides para torná-los aptos a penetrarem no oócito (SÁ et al., 2005). Este processo envolve a reorganização das proteínas da membrana e dos lipídios, alterações de características de motilidade e mudanças metabólicas de atividade, com o ponto culminante sendo a reação acrossômica (BLONDIN et al., 2009).

As membranas dos espermatozóides são altamente ricas em ácidos graxos insaturados e são sensíveis ao oxigênio (SIKKA, 1996). A oxidação dos lipídios desempenha um papel crucial na função dos espermatozóides, e a manipulação pode causar peroxidação lipídica, prejudicando principalmente as membranas dos acrossomos (KLINC et al., 2007). Durante o processo de sexagem os espermatozóides são submetidos a condições adversas que podem induzir a uma capacitação parcial (BLONDIN et al., 2009).

Segundo Mocé et al. (2006), a técnica de citometria de fluxo induz a alterações na membrana espermática, acelerando o processo de reação acrossômica no espermatozóide após a criopreservação (pré-capacitação). O que também ocorreu em trabalho realizado por Yamazaki et al. (2010), que observaram uma menor taxa de produção *in vitro* de embriões com sêmen sexado, que segundo estes, ocorreu provavelmente devido aos danos durante o processo de citometria de fluxo, causando alterações no padrão de fertilidade, que envolvem a reação acrossômica.

Uma das possíveis razões para a diminuição dos índices de fertilidade com o uso de sêmen sexado é o menor tempo de viabilidade, associado a diferentes padrões de motilidade espermática (SCHENK et al., 2007). Lu et al. (2004), relataram que o sêmen sexado necessita de menor tempo para a capacitação devido ao processo de separação por citometria de fluxo. López (2005) e Amaral (2007) acreditam que, por outro lado, a separação dos SPTZ (de um determinado sexo) é lenta, porque cada SPTZ deve ser contado individualmente e esta forma de contagem pode vir a causar algum estresse e dano a estes.

Os espermatozóides também são ligeiramente danificados pelo processo de triagem, onde são mantidos *in vitro* por um longo período, esperando para serem sexados, entre o período de coleta do sêmen e a criopreservação. Durante este período, eles são expostos a altas concentrações de corante de DNA, são bombeados através do separador de espermatozóides com alta pressão e velocidade de saída do bico de aproximadamente 80 km/h, diluídos em enormes quantidades de tampão de corrida de citometria de fluxo, e centrifugados a alto g para concentrá-los antes da criopreservação (GARNER e SEIDEL, 2000).

2.6 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL COM SÊMEN SEXADO

Baseando-se no fato de que os espermatozóides sexados já sejam pré-capacitados, pode significar que o processo de citometria de fluxo acarreta uma redução da sobrevivência dos mesmos (MAXWELL et al., 2004; MOCÉ et al., 2006). Segundo Meirelles (2008), por tal

motivo, uma das formas de se aumentar a taxa de gestação com a utilização do sêmen sexado seria realizando a deposição do sêmen próximo ao local da fertilização, assim como no momento mais próximo possível à ovulação e sugeriu mais pesquisas para elucidar tais dúvidas.

O local de deposição do sêmen sexado foi estudado em novilhas de leite, por Kurykin et al. (2007), que compararam a taxa de gestação após a deposição do sêmen sexado em diferentes locais do útero de novilhas de leite. Os resultados são indicativos de que o local de deposição do sêmen sexado parece não afetar as taxas de gestação quando se utiliza uma dose inseminante de pelo menos 2,2 x 10^6 sptz em novilhas.

Baruselli et al. (2007) realizaram um experimento comparando tipo de sêmen vs. momento da IA em 245 vacas de leite de alta produção, sincronizadas e inseminadas em tempo fixo. Os resultados foram indicativos de que não existem diferenças na taxa de concepção entre os grupos inseminados com sêmen convencional (54 ou 60 horas) e o grupo inseminado com sêmen sexado 60 horas após a retirada do implante de progesterona. Quando comparado o horário da inseminação artificial com sêmen sexado, apesar de não diferir estatisticamente, o grupo inseminado 60h após a retirada do implante de norgestomet (10 a 12h antes da ovulação), apresentou incremento de 4,4% na taxa de concepção (7,7 vs 12,1%), comparado com o grupo que recebeu a IATF 54h após a retirada do implante.

Outros estudos realizados por Schenk et al. (2009), com inseminação artificial em tempo fixo e sêmen sexado atrasando ou não, em 12 horas, a inseminação, após a retirada dos implantes de progesterona, demonstram uma melhora, embora não significativa, na taxa de gestação atrasando a inseminação artificial: vacas inseminadas 67-68 horas após a retirada do implante apresentaram taxa de gestação de 49% e vacas inseminadas 55 – 56 horas após a retirada dos implantes reduziram para 34%.

Brogliatti et al. (2010) compararam taxas de gestação com sêmen sexado atrasando ou não, em 6 horas, a inseminação após a retirada do dispositivo intravaginal de progesterona (52h vs 58h), e observaram uma taxa de gestação de 36,7% para o grupo 52h e de 39,6% para o de 58h (P>0,05), com propensão para aumento na taxa de 58h.

Sá Filho et al. (2010) realizaram um trabalho onde compararam o número de inseminações com sêmen sexado. Um grupo com uma única inseminação 12h após a observação do cio, e outro com duas doses do mesmo sêmen também 12h após a detecção do estro. O terceiro grupo foi inseminado com duas inseminações em dois momentos distintos, 12 e 24h após o cio. As taxas de gestação foram respectivamente 45%, 44% e 49% e não

apresentaram diferença (p>0,05), apesar de uma tendência a melhores resultados ao realizar a IA 24h após a observação do cio.

Almeida et al. (2010) compararam inseminações artificiais em tempo fixo com sêmen sexado, atrasando o horário da inseminação em 6 horas, e com sêmen convencional em horário normal. Observaram uma taxa de gestação similar entre os dois tipos de sêmen, 40% (8/20) e 58% (11/20), respectivamente (P>0,05).

Salles et al. (2010) compararam a inseminação artificial com sêmen sexado e convencional em horários diferentes após a observação do cio por radiotelemetria ("heat watch"). As inseminações ocorreram com sêmen sexado e convencional após o início do estro. No G1, os animais foram inseminados com sêmen sexado de 6 a 12h após a detecção do estro pela radiotelemetria; o G2 foi de animais inseminados com sêmen sexado de 18 a 24h após a detecção do estro; no G3 inseminado na mesma hora e condição do G1, porém com sêmen convencional; e o G4 inseminado como o G2, mas também com sêmen convencional. As taxas de gestação foram, respectivamente, de 48,7% (54/111); 52,44% (44/84); 60,6% (63/104) e; 64,8% (57/88) (p>0,05).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 LOCAL, CLIMA, PASTAGENS E CONTROLE SANITÁRIO DO REBANHO

Os experimentos foram conduzidos na Estação Experimental de Seropédica (E.E.S.), da PESAGRO – RIO, localizada no município de Seropédica, no estado do Rio de Janeiro.

O clima da região é classificado como AW, segundo a classificação de Koppen. A temperatura média anual varia entre a máxima de 27,7º e a mínima de 21,4ºC; a média da umidade do ar é de 67,1% e a precipitação pluviométrica média anual é de 1.293 mm. Esta última é concentrada nos meses de outubro a abril (79% da precipitação anual), diminuindo nos meses de maio a setembro, conforme dados da Estação Meteorológica da PESAGRO-RJ/E.E.S.

Os animais foram mantidos a pasto, sendo este composto basicamente por *Brachiaria decumbens, Panicum maximum cv tanzânia* e *Esporobus brasiliensis,* com água e sal mineral *ad libitum*.

A Estação adota controle sanitário rígido, com vacinações contra carbúnculo sintomático, brucelose, febre aftosa, raiva, esquema estratégico no controle de ecto e endoparasitas e exames bianuais de brucelose e tuberclose. Nos últimos três anos a taxa de abortamento foi inferior a 3%.

3.2 EXAMES REALIZADOS, CONDIÇÃO CORPORAL E MANEJO REPRODUTIVO

O exame ginecológico foi realizado visando a seleção das fêmeas aptas a reprodução, sendo estas as que apresentaram ovários cíclicos e ausência de patologias no trato genital.

A condição corporal média do rebanho foi 3,5, utilizando escala de 1 a 5 (HOUGHTON *et al*., 1990). Sendo incluídos nos experimentos animais com escore mínimo de 2,5 e máximo de 4,0.

Os sêmens convencional e sexado foram adquiridos em uma central de inseminação artificial, provenientes de duas partidas com coletas próximas de um mesmo touro da raça holandesa de fertilidade comprovada.

As partidas utilizadas foram analisadas quanto a motilidade, vigor e concentração.Essas análises foram realizadas no laboratório de reprodução animal da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

3.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

A Estação Experimental trabalha com duas estações de reprodução, possuindo assistência médica veterinária regular e utilizando IA em 100% das fêmeas em reprodução.

Foram realizados dois experimentos de janeiro a dezembro de 2008 e de 2009, sendo a fase experimental durante a estação de reprodução (inseminações), entre janeiro a abril (07/01 a 4/04), considerando para o experimento somente os dados da primeira inseminação artificial de cada animal.

Foram incluídas nos experimentos vacas que encerraram a lactação antes da estação de monta, e que não apresentaram histórico de repetição de cio após o último parto; e novilhas com peso vivo superior a 320Kg.

3.4 EXPERIMENTO I

3.4.1 Animais, grupos experimentais

Foram utilizadas 54 fêmeas (28 vacas e 26 novilhas) mestiças holandês-zebu, variando de 1/4 a 7/8 de sangue europeu. Os animais foram distribuídos em 2 grupos experimentais. O G1 foi constituído de 26 fêmeas (13 nuliparas e 13 pluriparas) inseminadas com sêmen convencional. As 28 restantes (13 nuliparas e 15 pluriparas) foram inseminadas com sêmen sexado e constituíram o G2.

3.4.2. Metodologia experimental

3.4.2.1 Observação do cio

A observação de cio foi feita de 6:00h às 18:00h a cada 3 horas durante no mínimo 30 minutos, por 10 dias. Durante este período os animais que apresentaram cio receberam meia dose, 50µg (1ml) de acetato de fertirelina (GnRH), por via Intramuscular (IM), e foram inseminados 12h após.

Após este período, no dia 11 do experimento foi feita a aplicação de meia dose de cloprostenol sódico, análogo sintético da prostaglandina ($PGF2_{\alpha}$), 125µg (1ml) IM, em todos os animais que ainda não haviam apresentado sinais de estro, e à medida em que os animais entravam em cio recebiam o GnRH e eram inseminados 12h após.

3.4.2.2 Inseminação Artificial

No momento da primeira inseminação artificial foi feito um sorteio para determinação da utilização de sêmen sexado ou convencional, e nas subseqüentes o sêmen foi alternado.

As inseminações foram feitas pelos mesmos dois inseminadores experientes.

Os animais foram contidos em um brete de contenção, tiveram a vulva higienizada e o sêmen foi depositado após a passagem do aplicador pelo último anel cervical. O descongelamento do sêmen ocorreu na vulva do animal.

3.4.2.3 Diagnóstico de gestação

O diagnóstico de gestação foi realizado por palpação trans-retal entre os dias 45 e 80 após a inseminação artificial.

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os animais experimentais pertenciam a duas categorias (novilhas e vacas) e estas foram distribuídas uniformemente entre os dois grupos experimentais de acordo com a tabela 1.

A taxa de gestação foi analisada pelo teste de Qui-quadrado, utilizando o pacote estatístico SAS versão 9.1.

Tabela 1 – Categoria e numero de animais inseminados com sêmen convencional (G1) ou sexado (G2).

Categoria	G1	G2	Total
Nuliparas	13	13	26
Pluriparas	13	15	28
Total	26	28	54

3.6 EXPERIMENTO II

3.6.1 Animais e grupos experimentais

Utilizou-se 55 fêmeas (31 pluripars e 24 nuliparas) mestiças holandês-zebu, variando de 1/4 a 7/8 de grau de sangue europeu. Os animais foram distribuídos em 2 grupos experimentais: G3 e G4. Em ambos, as fêmeas foram inseminadas com sêmen sexado de um mesmo touro. No G3, 27 fêmeas (12 nuliparas, 4 primíparas e 11 pluriparas) foram inseminadas 12h após a observação do cio, conforme modelo proposto por Trimberger (1948). E no G4, as 28 fêmeas (12 nuliparas, 5 primíparas e 11 pluriparas) foram inseminadas 15h após a observação do estro, ou seja, o momonto da IA foi retardada em 3 horas.

3.6.2 Metodologia experimental

3.6.2.1 Observação do cio

A observação de cio, foi feita de 6:00h às 18:00h a cada 3 horas durante no mínimo 30 minutos, por 10 dias. Durante este período os animais que apresentaram cio foram inseminados.

Após este período, no dia 11 do experimento, foi feita a aplicação de meia dose de cloprostenol sódico, análogo sintético da prostaglandina ($PGF_{2\alpha}$), 125µg (1ml) IM, em todos os animais que ainda não haviam apresentado sinais de estro, e seguida a observação de cio.

3.6.2.2 Inseminação Artificial

Os animais foram subdivididos de acordo com o grau de sangue e número de parições.

As inseminações foram feitas pelos mesmos dois inseminadores experientes.

Os animais foram contidos em um brete de contenção, tiveram a vulva higienizada, o descongelamento do sêmen foi feito em banho maria a 35-37^{o}C por 30 segundos, e esse foi depositado após a passagem do aplicador pelo último anel cervical.

3.6.2.3 Diagnóstico de gestação e sexagem fetal

O diagnóstico de gestação foi através da ultra-sonografia a partir de 28 dias da inseminação e a sexagem fetal entre 55 e 60 dias.

3.6.3 Análise estatística

Os animais experimentais pertenciam a três categorias: novilhas, primíparas e multíparas e a quatro grupos sanguíneos: 1/4, 1/2, 3/4 e >3/4. E foram distribuídas uniformemente entre os dois grupos experimentais de acordo com as tabelas 2 e 3.

A taxa de gestação foi analisada pelo teste de Qui-quadrado, utilizando o pacote estatístico SAS versão 9.1.

Tabela 2 – Categoria e número de animais inseminados no horário 12 horas (G3) e no horário 15 horas (G4).

Categoria	G3	G4	Total
Nuliparas	12	12	24
Primíparas	4	5	9
Pluriparas	11	11	22
Total	27	28	55

Tabela 3 – Grau de sangue e numero de animais inseminados no horário 12 horas (G3) e no horário 15 horas (G4).

Grau de sangue	G3	G4	Total
1/4	10	10	20
1/2	7	5	12
3/4	6	10	16
>3/4	4	3	7
Total	27	28	55

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 EXPERIMENTO I

4.1.1 Análise do Sêmen

Amostras do sêmen foram analisadas. O sêmen sexado apresentou resultados inferiores ao sêmen convencional, porém ambas com motilidade e vigor compatíveis com a fertilidade. Foi constatada concentração espermática menor do sêmen sexado, o que pode interferir com a fertilidade conforme verificado por Bodmer et al. (2005). Resultado semelhante ao do presente trabalho que foi de $1,6x10^6$ sptz/ml foi encontrado por Meirelles et al. (2008) que observam em seu estudo a concentração espermática de $1,2x10^6$sptz/ml.

4.1.2 Fertilidade das pluríparas e nulíparas

O resultado da avaliação da fertilidade das fêmeas comparando vacas e novilhas sem levar em consideração o tipo de sêmen utilizado, pode ser observado na tabela 4. Os resultados demonstram que novilhas tendem a ser mais férteis do que vacas.

Tabela 4 - Categoria animal e percentual de fêmeas gestantes ou não

Categoria	Gestante	%	Não gestantes	%	Total
Pluriparas	7	25,00 [a]	21	75,00	28
Nuliparas	12	46,15 [b]	14	53,85	26
Total	19	35.19	35	64.81	54

Valores nas colunas tendo letras sobrescritas diferentes são significativamente diferentes (P<0,05)

Os resultados observados, independente do sêmen ser sexado ou não, estão de acordo Rodrigues (2008), que encontrou novilhas mais férteis do que vacas (P<0,05), e quanto maior o numero parições, menor é a fertilidade do animal. O que pode ser explicado devido ao ambiente uterino. E por isso, as centrais de inseminação artificial preconizam a utilização do sêmen sexado em novilhas (CRV LAGOA, 2010).

4.1.3 Taxa de gestação à primeira inseminação artificial

As taxas de gestação obtidas por grupo experimental comparando as fêmeas inseminadas com sêmen convencional (G1) e sexado (G2) estão representadas na tabela 5, e foram superiores para o sêmen convencional (p<0,05).

Tabela 5 - Taxa de fertilidade entre os grupos experimentais

Tipo de sêmen	Gestantes	%	Não gestantes	%	Total
G1	14	53,85 [a]	12	46,15	26
G2	5	17,86 [b]	23	82,14	28
Total	19	35,19	35	64,81	54

Valores nas colunas tendo letras sobrescritas diferentes são significativamente diferentes (P<0,05)

A diferença de 36,6% entre a taxa de gestação das fêmeas que receberam sêmen sexado ou convencional demonstra uma menor fertilidade do primeiro (P<0,05), quando utilizado no manejo de inseminação artificial proposto por Trimberger (1948), ou seja, fêmeas observadas em cio são inseminadas 12h após e com o descongelamento do sêmen na vulva do animal.

Este fato justifica as pesquisas que visam a adoção de técnicas de manejo, se possível tão simplificadas quanto a proposta por Trimberg (1948), e que melhorem os resultados do sêmen sexado.

Em estudos realizados por Garner e Seidel (2000); Lima (2007) e Garner e Seidel (2008) foram observadas queda entre 20 a 30% da fertilidade do sêmen sexado quando comparada ao convencional. Bastos et al (2007) encontraram diferença de 30,6%, que são ligeiramente inferiores às obtidas no presente trabalho (36,6%). Contudo, Meirelles et al (2008) encontraram uma diferença na taxa de gestação de 50%. As diferenças na fertilidade entre várias populações de bovinos podem se justificar pelas condições de manejo dos plantéis e do momento da inseminação artificial.

O sêmen convencional aparentemente demonstra ser mais resistente e capaz de manter melhores resultados quando em situações adversas de manejo deste, como o descongelamento inadequado. O descongelamento na temperatura vaginal, devido às temperaturas elevadas no verão dos trópicos é mais alta do que a indicada, e constitui uma prática que pode interferir na qualidade do sêmen, acabando por aumentar as diferenças na taxa de gestação entre inseminações com sêmen sexado e convencional. Garner e Seidel (2008) citam que com manejo adequado do sêmen, utilização de touros de fertilidade incontestável, utilização de fêmeas de boa fertilidade (principalmente novilhas), condição corporal ideal (entre 2,5 e 3,5) e manejo nutricional adequado, o sêmen sexado pode apresentar valores próximos a 90% do sêmen convencional.

Baruselli et al (2007), citam uma diferença de 50 a 60% na taxa de prenhez quando comparada a inseminação com sêmen sexado e convencional em vacas leiteiras de alta lactação. O que corrobora com a idéia de que quanto maior o desafio, maior a diferença entre os dois tipos de sêmen. As vacas de alta lactação tendem a ter problemas metabólicos e a ser menos férteis do que novilhas e vacas secas, aumentando as dificuldades enfrentadas pelo sêmen sexado e demonstrando, assim, a maior resistência do sêmen convencional.

Em relação às diferenças nas concentrações do sêmen convencional com no mínimo $10x10^6$ e sexado $2x10^6$, foi citado por Seidel et al. (1999), Garner e Seidel (2000), Schenk e Seidel (2007), Seidel e Schenk (2008), não fazer diferença. Nestes estudos realizados com sêmen sexado foi demonstrado que doses crescentes de 3 a $6x10^6$ raramente apresentam maiores taxas de gestação em relação à dose de $2x10^6$.

Bodmer et al (2005), também compararam a taxa de gestação inseminando vacas e novilhas com doses de sêmen sexado e convencional na dose de $2x10^6$, e não encontraram diferenças nas taxas de gestação. Duarte et al. (2007) que trabalharam com doses inseminantes de $3x10^6$ para o sêmen sexado e $10x10^6$ para o sêmen convencional não observaram diferenças nas taxas de gestação utilizando estas concentrações. Porém, estes autores trabalharam apenas com novilhas nelore, o que acaba por corroborar com a hipótese de que diminuindo o desafio, melhores são as chances de resultados semelhantes entre os dois tipos de sêmen. No presente trabalho, o gado girolando e as categorias de ordem de parição diferentes, submetidas ao verão, mostram resultados superiores ($p<0,05$) quando utilizado o sêmen convencional.

4.1.4 Relação custo benefício da utilização do sêmen sexado

A avaliação do custo da produção de uma bezerra com sêmen sexado e convencional encontra-se na tabela 6. A relação entre o custo da produção de uma fêmea com sêmen sexado e convencional foi calculado considerando o número de doses de sêmen gastos e o valor destas para se obter 5 gestações em 28 inseminações (17,86%), considerando que a precisão mínima é de 85% de fêmeas geradas. Da mesma forma para o sêmen convencional, 14 gestações obtidas em 26 doses com probabilidade de 50% de fêmeas. Neste caso, o valor de uma fêmea gerada a partir do sêmen sexado (R$ 388,95), foi de 6,98 vezes mais cara que a proveniente do sêmen convencional (R$ 55,71).

Tabela 6 - Avaliação do custo de produção de uma bezerra em cada grupo.

G	doses	Custo por dose	Total	Gestação	Custo gest	fêmea	val. Fêmea
G1	26	R$ 15,00	R$ 390,00	14	R$ 27,86	50%	R$ 55,71
G2	28	R$ 57,00	R$1.653,00	5	R$300,60	85%	R$388,95

Para melhorar esta relação é necessário que os índices de gestação do sêmen sexado aumentem. O preço do sêmen também interfere no custo final.

Segundo George e Seidel (2008), está claro que o custo do sêmen para espermatozóides sexados aumenta substancialmente com a queda da taxa de gestação. E que a economia da utilização de espermatozóides sexados para inseminação artificial vai depender do valor comercial do macho ou da fêmea, das taxas de gestação e dos custos para sexagem dos espermatozóides (Seidel, 2003).

Deve-se considerar ainda, que o nascimento de macho é indesejável no gado de leite e numa segunda chance a fêmea com possibilidade de nascimento de uma bezerra deve ser considerado.

Segundo George e Seidel (2008), uma forma de minimizar os custos seria de primeiramente usar inseminação com sêmen sexado em novilhas e, caso elas não fiquem gestantes, usar então o convencional para subseqüentes inseminações.

4.2 EXPERIMENTO II

4.2.1 Taxa de gestação com a utilização do sêmen sexado de acordo com a ordem de parição

As fêmeas foram agrupadas em cada grupo experimental por ordem de parição, tendo em vista que cada categoria animal pode apresentar uma diferença de fertilidade. As taxas de gestação ou não obtidas, sem considerar o horário da inseminação artificial, nos grupos podem ser observadas na tabela 7.

Tabela 7 - Percentual de gestação por ordem de parição

Categoria	Gestante	%	Não gestantes	%	Total
Nuliparas	13	54,17	11	45,83	24
Primíparas	4	44,44	5	55,56	9
Pluriparas	7	31,82	15	68,18	22
Total	24	43,64	31	56,36	55

Novilhas tendem a ser mais férteis do que vacas, e segundo Rodrigues (2008), quanto maior o número de parições menor é a fertilidade do animal. Com o intuito de não interferir nos resultados entre os tratamentos, os grupos experimentais neste trabalho foram homogeneizados em relação às ordens de parições.

4.2.2 Taxa de gestação com a utilização do sêmen sexado de acordo com o grau de sangue

Gado mestiço como o Girolando, por questão de heterose, pode apresentar diferença entre os resultados das taxas de gestação (RUAS et al., 2005). Portanto, os grupos experimentais também foram homogenizados de acordo com o grau de sangue dos animais neste experimento. O percentual de gestação para cada grau de sangue pode ser observado na tabela 8.

Tabela 8 - Percentual de gestação por grau de sangue

Grau de Sangue	Gestante	%	Não gestantes	%	Total
1/4	5	25,00	15	75,00	20
1/2	6	60,00	4	40,00	10
3/4	10	55,56	8	44,44	18
>3/4	3	42,86	4	57,14	7
Total	24	43,64	31	56,36	55

Observa-se a tendência de uma maior taxa de gestação nas fêmeas meio sangue. Madalena (1992) apontou significativas vantagens de natureza produtiva, reprodutiva e econômica de vacas meio sangue europeu/zebu, pois a heterose é maior. E Ruas et al. (2005) citam que a maior eficiência registrada em partos subseqüentes ao primeiro nas vacas meio sangue é indicativo de maior fertilidade.

4.2.3 Taxa de gestação por horário de Inseminação

A taxa de gestação dos grupos experimentais está apresentada na tabela 9. No presente trabalho o horário das inseminações não apresentou diferença ($p>0,05$). Nas vacas inseminadas 12h após a observação de cio (G3) verificou-se uma taxa de gestação de 37,04% e as inseminadas 15h após (G4) 50%, não havendo diferença, embora tenha sido observado um incremento de quase 13% nas gestações quando se atrasa a inseminação.

Tabela 9 - Taxa de gestação por horário de inseminação

Horario IA	Gestantes	%	Não gestantes	%	Total
G3	10	37,04[a]	17	62,96	27
G4	14	50,00[a]	14	50,00	28
Total	24	43,64	31	56,36	55

Valores nas colunas tendo letras sobrescritas iguais não são significativamente diferentes ($p>0,05$)

Neste trabalho buscou-se um manejo adequado para a utilização do sêmen sexado. O descongelamento do sêmen pode ter sido importante nos resultados obtidos. De acordo com o Protocolo CRV LAGOA (2010) é indicada como melhor técnica o descongelamento em água

a 35ºC durante 30 segundos com as extremidades e lados da palheta submersas, o que foi praticado neste experimento. Com esse rigor no descongelamento e adequação no horário das IAs o percentual médio de gestação obtido (43,64%) foi bem superior ao do ano anterior, quando do experimento I (17,86%), e os 50% alcançados no G4 do experimento II assemelham-se ao que foi verificado no sêmen convencional no mesmo plantel no ano anterior.

Resultados semelhantes foram encontrados por Salles et al. (2010), que também observaram uma tendência ao aumento nas taxas de gestação com os atrasos nas inseminações, estes compararam a inseminação artificial com sêmen sexado em horários diferentes após a observação do cio por radiotelemetria ("*heat watch*"). As inseminações dos dois grupos ocorreram no horário de 12h após as manifestações de estro e 24h após esta observação e as taxas de gestação foram respectivamente de 48,7% (54/111) e 52,44% (44/84) ($p>0,05$).

Resultados similares também foram apresentados por Sá Filho et al. (2010) que realizaram um trabalho onde compararam o número de inseminação com sêmen sexado. Um grupo foi inseminado com uma única inseminação 12h após a observação do cio, outro grupo foi inseminado com duas inseminações com o mesmo sêmen também 12h após a detecção do cio e um terceiro grupo foi inseminado com duas inseminações em dois momentos distintos, 12 e 24h após o cio. As taxas de gestação foram respectivamente 45%, 44% e 49% ($p>0,05$).

Em trabalhos realizados com inseminação artificial com tempo fixo (BARUSELLI et al. 2007; SCHENK et al., 2009; ALMEIDA et al., 2010; BROGLIATTI et al., 2010) também foi possível observar um incremento nas taxas de gestação ao se atrasar as inseminações, assim como na detecção de cio, apresentando uma propensão a melhores resultados com inseminações tardias, com atraso de 3 a 12h para inseminações com observação de cio e de 6 a 12h nos protocolos de IATF.

Os resultados encontrados no presente trabalho assim como nos de Salles et al. (2010), Sá Filho et al. (2010), Baruselli et al. (2007), Schenk et al. (2009), Almeida et al. (2010) e Brogliatti et al. (2010) demonstram uma variação de resultados e diferentes respostas quanto às taxas de gestação com sêmen sexado, mostrando mais uma vez que esse tipo de sêmen está sujeito a inúmeros fatores (descongelamento, escolha das fêmeas, escolha do sêmen de fertilidade conhecida, manejo da propriedade, etc) que acabam por variar seus resultados.

De acordo com o observado no presente trabalho, sugere-se para facilidade de manejo o uso do sêmen sexado nas fêmeas observadas em cio à tarde, sendo inseminadas na metade

da manhã do dia seguinte (10:00h); e nas fêmeas observadas em cio de manhã inseminação em horário normal com sêmen convencional.

4.2.4 Resultado da sexagem fetal

No presente trabalho realizou-se a sexagem fetal em todas as fêmeas. Observou-se 100% de fetos fêmeas.

Este resultado supera os encontrados em outros estudos (LÓPEZ, 2005; BARUSELLI et al., 2007; RATH e JOHNSON, 2008; GARNER e SEIDEL, 2008), que demonstram uma acurácia de 85 a 95%. O que torna menos oneroso a produção de bezerras com a utilização do sêmen sexado, levando em consideração que segundo Wolf e Gabaldi (2002) é possível obter-se uma acurácia de 100% na sexagem fetal, a partir do 55º dia de gestação, apresentando um limite seguro entre 59 e 68 dias.

4.2.5 Relação custo benefício da utilização do sêmen sexado

A relação do custo da gestação com sêmen sexado foi calculada considerando o número de doses de sêmen gastos e o valor destas para se obter 14 gestações em 28 inseminações (50%). Considerando que neste estudo foi de 100% o número de fêmeas geradas e levando em consideração o custo da gestação de uma bezerra com sêmen convencional apresentado no experimento I (R$ 55,71), o valor de uma fêmea gerada a partir do sêmen sexado (R$ 118,07), foi ainda de 2,12 vezes maior que do sêmen convencional.

Ao comparar os custos para se produzir uma bezerra com sêmen sexado no experimento I (6,98 vezes maior que com sêmen convencional) e no experimento II (2,12 vezes maior), observa-se uma diminuição deste custo, o que comprova que para se obter melhores valores é necessário um aumento nas taxas de gestação.

Existe uma tendência de mercado relativa ao valor da dose do sêmen sexado, que é a diminuição no preço deste. Portanto, acredita-se que em um futuro próximo, aliado aos avanços nas pesquisas com o intuito de melhorar as taxas de gestação e concomitantemente a redução nos custos com a produção deste sêmen, esta técnica apresentará ainda mais vantagens do que as já existentes e tornará o sêmen sexado uma realidade cada vez mais próxima de qualquer pequeno/médio produtor, lembrando sempre a necessidade da manipulação e manejo adequados do sêmen e dos animais.

5 CONCLUSÕES

Nas condições que foram realizadas este trabalho, conclui-se:

- No experimento I o sêmen convencional apresentou resultado superior, sugerindo adequação na manipulação e no momento da IA com o sêmen sexado.
- No experimento II a manipulação correta aliada ao atraso de 3 horas na inseminação artificial não apresentou diferença estatística, embora tenha sido observado um incremento de 13% nas taxas de gestação, podendo favorecer a utilização do sêmen sexado.
- Observando critérios como a manipulação precisa, seleção adequada de animais e o atraso nas inseminações artificiais, o sêmen sexado pode apresentar resultados semelhantes ao convencional, o que favorece a relação custo benefício da produção das fêmeas com sêmen sexado.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA G. P.; ALVAREZ R. H. Métodos de separação de espermatozóides para escolha do sexo dos animais domésticos. *B. Indústr.anim.*, v. 60, n. 1, p. 107-115, 2003a.

ALMEIDA G. P.; ALVAREZ R. H. Métodos de Determinação do Sexo de Embriões Bovinos. *B. Indústr.anim.*, v. 60, n. 2, p. 185-196, 2003b.

ALMEIDA, J.; RESENDE, O. A.; SILVEIRA, D. L. Effect of semen types (sexed *v.* Nonsexed) on conception rates of girolando heifers inseminated in fixed-time ai. In: *Reproduction, Fertility and Development*, v. 22, p. 162, Issue 1, 2010.

AMARAL, J.B. Reprodução Animal. Canal Tortuga - Notícias Via on line, acesso em 17 de maio de 2007, Campinas - SP, 17 maio 2007.

ARTUNDUAGA, M.A.T.; VILELLA, R. Eficiência reprodutiva, patologias reprodutivas e protocolos de reprodução (Parte I). Rehagro, Artigos Técnicos, Mar. 2007.

ASBIA. O que é inseminação artificial (IA). *AgroRede Especial*; Maio, 2007.

ASBIA. Relatório de comercialização do sêman de 2008. Disponível em: www.asbia.org.br/?mercado/index. Acesso em: 6 de abril 2009.

AX, R.L.; SPROTT, L.R.; HARRIS, M.D.; FORREST, D.W.; YOUNG, J.; ZHANG, H.M.; OYARZO, J.N.; BELLIN, M.E. Artificial insemination outcomes in beef females using bovine sperm with a detectable fertility-associated antigen. *Journal of Animal Science*, v. 78, p. 795-798, 2000.

BARUSELLI, P.S. Novos avanços em protocolos reprodutivos para fêmeas de corte. Reagro, Artigos Técnicos, Jun/2007.

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. *Rev Bras Reprod Anim*, Belo Horizonte, v. 31, n. 3, p. 374-381, 2007.

BASTOS, A.; MEIRELLES C.; SEGUI M.S.; WEISS R.R.; KOZICKI, L.E. Comparação entre a fertilidade do sêmen sexado e sêmen convencional; Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 17, Curitiba, PR. *Anais* ... Belo Horizonte, MG: CBRA, 2007.

BLONDIN, P.; BEAULIEU, M.; FOURNIER, V.; MORIN, N.; CRAWFORD, L.; MADAN, P.; KING, W.A. P. Analysis of bovine sexed sperm for IVF from sorting to the embryo. *Theriogenology*, v. 71, p. 30–38, 2009.

BODMER, M.; JANETT, F.; HASSIG, M.; DEN 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.

BROGLIATTI, G.M.; DOMINGUEZ, G.; LÜSSENHOFF, M.G.; PERKINS, J.; BÓ, G.A. Deep intrauterine fixed-time artificial insemination using sexed semen in holstein heifers. *Reproduction, Fertility and Development*, v. 22, p. 165, Issue 1, 2010.

CRV LAGOA. *Protocolo de utilização do sêmen sexado*, Sertãozinho. Disponível em: <http://www.crvlagoa.com.br/texto.asp?id=86&Tit=Sêmen%20Sexado>. Acesso em: 25/01/2010.

DUARTE, A.M.; DINIZ, E.G.; NASCIMENTO, M.R.B.M.; TAVARES, M.; FRANCO, R.V.R. Pregnancy rates in heifers Inseminated with semen of Nelore bulls sexed by flow cytometry. *Ciência Animal Brasileira*, v. 8, n. 3, p. 567-573, 2007.

GARNER, D.L.; SEIDEL JR, G.E. Sexando esperma del toro, In: Topics in bull fertility, P.J. Chenoweth (Ed.) Publisher: International Veterinary Information Service (www.ivis.org), Ithaca, New York, USA, 2000.

GARNER D.L.; SEIDEL JR, G.E. History of commercializing sexed semen for cattle. *Theriogenology*, v. 69, p. 886-895, 2008.

GEORGE, E.; SEIDEL JR, G.E. Inseminação artificial de bovino com sêmen sexado – Lidando com baixo número de espermatozóides ligeiramente comprometidos. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 36 (Supl. 2), p. 279-286, 2008.

GUTHRIE, H.D.; JOHNSON, L.A.; GARRETT, W.M.; WELCH, G.R.; DOBRINSKY, J.R. Flow cytometric sperm sorting: Effect of varying laser power on embryo development in swine. *Molecular reproduction and development*, v. 61, p. 87-92, 2002.

HOLLINSHEAD, F.K.; O'BRIEN, J.K.; MAXWELL, W.M.; EVANS, G. Production of lambs of predetermined sex after the insemination of ewes with low numbers of frozen-thawed sorted X- or Y-chromosome-bearing spermatozoa. *Reprod Fertil Dev 14*, p. 503–508, 2002.

HOUGHTON, P.L.; LEMENAGER, R.P.; HORSTMN, L.A.; HENDRIX, K.S.; MOSS, G.E. Effects of body composition, pre- and postpartum energy level and early weaning on reproductive performance of beef cows and preweaning calf gain. *Journal Animal Science*, v. 68, n.5, p. 1438-1446, 1990.

HUANCA, W.L. Sitio Argentino de Producción Animal. *Rev Inv Vet Perú 2*; 12(2): p. 161-163, 2001.

KLINC, P.; FRESE, D.; OSMERS, H.; RATH, D. Insemination with sex sorted fresh bovine spermatozoa processed in the presence of antioxidative substances. *Reprod Dom Anim*, v. 42, p. 58–62, 2007.

KURYKIN, J.; JAAKMA, U.; JALAKAS, M.; AIDNIK, M.; WALDMANN, A.; MAJAS, L. Pregnancy percentage following deposition of sex-sorted sperm at different sites within the uterus in estrus-synchronized heifers. *Theriogenology*, v. 67, p. 754-759, 2007.

LAUTERBACH, T. O Sexo determinado. *AG Leilões*, v. 76, p. 50-53, Maio, 2005.

LEÃO, K.M. Técnicas de Inseminação Artificial. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Botucatu, 2003.

LIMA, V.F.M.H. Avanços metodológicos na seleção do sexo de espermatozóides bovinos para utilização no melhoramento genético e na produção animal. *R. Bras. Zootec*, v. 36 (Supl. 0), Viçosa, 2007.

LÓPEZ, D. Sincronización de celo, sexado de semen, transferencia de embriones: Por qué y para qué en un sistema de cria. Aspectos Claves. *Jornada de Actualización Técnica Ganadera Ganadería con precisión*. Región Centro de AACREA, CREA Calamuchita, FAV UNRC y SRRC, 2005.

LU, K.H.; SEIDEL JR, J.E. 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.

MADALENA, F.E. Reposição com novilhas F1: um esquema simples de cruzamento. *Informe agropecuário*, Belo Horizonte, v. 16, n. 177, p. 22-27, 1992.

MARQUES, M.O.; BARREIROS, T.R.R.; MAX, M.C.; SILVA, K.C.F.; GOMES, R.G.; SENEDA, M.M. IATF: desafios e soluções para maximizar a eficiência da técnica. *Acta Scientiae Veterinariae* 36 (Supl. 2), p. 155-160, 2008.

MAXWELL, W.M.C.; EVANS, G.; HOLLINSHEAD,F.K.; BATHGATE, R.; GRAAF, S.P.;ERIKSSON, B.M.; GILLAN, L.; MORLON,K.M.; O'BRIEN, J.K. Integration of sperm technologyinto the ART toolbox. *Animal Reproduction Science*, Amsterdam, v. 82-83, p.79-95, 2004.

MEIRELLES, C.; FARIA, V.R.; SOUZA, A.B.; WEISS, R.R.; SEGUI, M.S.; KOZICKI, L.E. Eficiência da inseminação artificial com sêmen sexado bovino: aspectos de viabilidade reprodutiva e econômica. *Archives of Veterinary Science*, v. 13, n. 2, p. 98-103, 2008.

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

PALHANO, H.B.; JESUS, V.L.T.; TRÉS, J.E.; JACOB, J.C.F.; ALVES, P.A.M.; FOLHADELLA, I.M.; RAMOS, A.A.; MELLO, M.R.B.; *Reprodução em bovinos*: Fisiologia, terapeutica, manejo e biotecnologia. Ed. 2. Rio de Janeiro:: L.F. Livros, 2008. p. 250.

PITOMBO, L.H. *Revista Balde Branco* - 2ª Matéria. Disponível em: <http://www.baldebranco.com.br/atual.htm>. Acesso em: 20/11/07.

RATH, D.; JOHNSON, L.A. Application and commercialization of flow cytometrically sex-sorted semen. *Reprod Dom Anim,* v. 43 (Suppl. 2), p. 338–346, doi: 10.1111/j.1439-0531.2008.01182.x ISSN 0936-6768; 2008.

RENESTO, A. *Associação das biotecnologias: aspiração folicular guiada por ultra-sonografia e superovulação na produção in vitro e in vivo de embriões bovinos.* Jaboticabal, 2004. 59 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária – Reprodução Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp, Jaboticabal, São Paulo, 2004.

RODRIGUES, A. *Revista Terranova*. Tecnologia em debate: custo ou confiabilidade, nº 1, Julho/2008.

RUAS, J.R.M.; AMARAL, R.; NETO, A.M.; FERREIRA, J.J. Produção de leite e bezerro comercial com vacas F1 holandês-zebu. Palestra apresentada no XXVI Encontro de Médicos Veterinários e Zootecnistas dos Vales do Mucuri, Jequitinhonha e Rio Doce – Maio de 2005.

RUMPF, R.; DODE, M.A.M.; SILVA, F.A.E.D. Avanços na biotecnologia da reprodução dos bovinos. *III Simpósio Nacional de Melhoramento Animal*, 2002.

SÁ, W.F.; LEITE, V.; CAMARGO, L.S.A.; FERREIRA, A.M.; VIANA, J.H.M.; NOGUEIRA, L.A.G.; RAMOS, A.A. Avaliação da capacitação espermática *in vitro* pela reação acrossômica e viabilidade em sêmen de touros Guzerá. *R. Bras. Cien. Vet*., v. 12, n. 1/3, p. 33-36, 2005.

SÁ FILHO, M.F.; AYRES, H.; FOSADO, M.; CAMPOS FILHO, E.P.; BARUSELLI, P.S. Strategies to improve conception rates in dairy heifers indentified in estrus using tail head paintingand inseminated with sexed semen. *Reproduction, Fertility and Development*; v. 22, p. 343, Issue 1, 2010.

SALLES, 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. *Reproduction, Fertility and Development*; v. 22, p. 178, Issue 1, 2010.

SCHENK, J.L.; SEIDEL JR, G.E. Pregnancy rates in cattle with cryopreserved, sexed spermatozoa: effects of laser intensity, staining conditions, and catalase. In: Juengel JI, Murray JF, Smith MF (eds.). *Reproduction in Domestic Animals VI*. Nottingham University Press, Nottingham, U.K., p. 165-177, 2007.

SCHENK, J.L.; CRAN, D.G.; EVERETT, R.W.; SEIDEL JR, G.E. Pregnancy rates in heifers and cows with cryopreserved sexed sperm: Effects of sperm numbers per inseminate, sorting pressure and sperm storage before sorting. *Theriogenology*, v. 71, p. 717-728, 2009.

SEIDEL JR, G.E. Economics of selecting of sex: the most important genetic trait. *Theriogenology*, v. 59, p. 585-598, 2003.

SEIDEL JR, G.E.; SCHENK, J.L.; HERICKHOFF, S.P. Insemination of heifers with sexed sperm. *Theriogenology*, v. 62, p. 248-252, 1999.

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. *Anim Reprod Sci*, v. 105, p. 120-138, 2008.

SIKKA, S.C. Oxidative stress and role of antioxidants in normal and abnormal sperm function. *Front Biosci*, v. 1, p. 78– 86, 1996.

SOUSA, D.B. *Eventos envolvidos no processo da capacitação espermática in vivo*. Botucatu, 2003. 28 p. Monografia (Disciplina Seminários II do Programa de Pós-Graduação) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, UNESP, Botucatu, São Paulo, 2003.

TRIMBERGER, G.W. Breeding efficiency in dairy cattle from artificial insemination at various intervals before and after ovulation. *Nebraska Agric. Exp. Stn. Res. Bull*. 153:1, 1948.

VANZIN, I.M. Inseminação artificial e manejo reprodutivo dos bovinos. Disponível em: http://www.inseminacaoartificial.com.br/momento_ideal.htm. Acesso em: abril 2009.

VIANA, J.H.M.; CAMARGO, L.S.A. O que faz a inseminação artificial dar resultados. *Revista Balde Branco*, nº 525, Julho/2008.

WOLF, A.; GABALDI, S.H. Acompanhamento ultra-sonográfico da gestação em grandes animais – parte II. *Ciên. Agr. Saúde*, FEA, Andradina, v. 2, n. 2; p. 84-89, 2002.

YAMAZAKI, L.T.S.; BENZI, E.C.D.; CORNEGLIAN, D.P.; ROMANO, M.; LANDIM JUNIOR, L.P.; CASTRO NETTO, A.; GUIDORIZZI, F.; SANTOS, G.L.; YAMAZAKI, W. Performance of different bovine breeds on *in vitro* commercial embryo production using sex-sorted semen. *Reproduction, Fertility and Development*, v. 22, p. 344, Issue 1, 2010.

Livros Grátis

(http://www.livrosgratis.com.br)

Milhares de Livros para Download:

Baixar livros de Administração
Baixar livros de Agronomia
Baixar livros de Arquitetura
Baixar livros de Artes
Baixar livros de Astronomia
Baixar livros de Biologia Geral
Baixar livros de Ciência da Computação
Baixar livros de Ciência da Informação
Baixar livros de Ciência Política
Baixar livros de Ciências da Saúde
Baixar livros de Comunicação
Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE
Baixar livros de Defesa civil
Baixar livros de Direito
Baixar livros de Direitos humanos
Baixar livros de Economia
Baixar livros de Economia Doméstica
Baixar livros de Educação
Baixar livros de Educação - Trânsito
Baixar livros de Educação Física
Baixar livros de Engenharia Aeroespacial
Baixar livros de Farmácia
Baixar livros de Filosofia
Baixar livros de Física
Baixar livros de Geociências
Baixar livros de Geografia
Baixar livros de História
Baixar livros de Línguas

Baixar livros de Literatura
Baixar livros de Literatura de Cordel
Baixar livros de Literatura Infantil
Baixar livros de Matemática
Baixar livros de Medicina
Baixar livros de Medicina Veterinária
Baixar livros de Meio Ambiente
Baixar livros de Meteorologia
Baixar Monografias e TCC
Baixar livros Multidisciplinar
Baixar livros de Música
Baixar livros de Psicologia
Baixar livros de Química
Baixar livros de Saúde Coletiva
Baixar livros de Serviço Social
Baixar livros de Sociologia
Baixar livros de Teologia
Baixar livros de Trabalho
Baixar livros de Turismo