



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA
CURSO DE ZOOTECNIA**

EDUARDO RODRIGUES PESSOA

**BIOTECNIAS REPRODUTIVAS UTILIZADAS NO SETOR DE REPRODUÇÃO
ANIMAL DO CAMPUS DE ONDINA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA.**

**FORTALEZA
2017**

EDUARDO RODRIGUES PESSOA

BIOTECNIAS REPRODUTIVAS UTILIZADAS NO SETOR DE REPRODUÇÃO
ANIMAL DO CAMPUS DE ONDINA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA.

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Zootecnia
do Departamento de Zootecnia da
Universidade Federal do Ceará,
como requisito parcial para obtenção
do Título de Bacharel em Zootecnia.

Orientadores:
Prof. Dr. Arlindo Alencar Araripe Moura
Prof. Dr. Rodrigo Bittencourt Freitas

FORTALEZA
2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

P567b Pessoa, Eduardo Rodrigues.

Biotecnias reprodutivas utilizadas no Setor de Reprodução Animal do Campus de Ondina da Universidade Federal da Bahia. / Eduardo Rodrigues Pessoa. – 2017.

35 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Zootecnia, Fortaleza, 2017.

Orientação: Prof. Dr. Arlindo Alencar Araripe Moura.

1. Biotecnias reprodutivas. 2. Produtividade. 3. Bahia. I. Título.

CDD 636.08

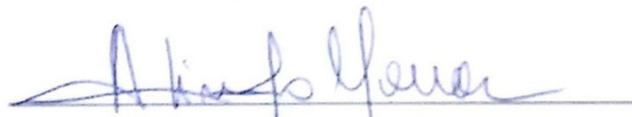
EDUARDO RODRIGUES PESSOA

BIOTECNIAS REPRODUTIVAS UTILIZADAS NO SETOR DE REPRODUÇÃO
ANIMAL DO CAMPUS DE ONDINA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA.

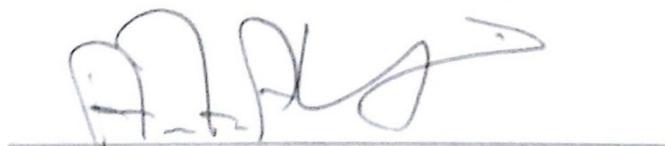
Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Zootecnia
do Departamento de Zootecnia da
Universidade Federal do Ceará,
como requisito parcial para obtenção
do Título de Bacharel em Zootecnia.

Aprovada em: 28/12/2017.

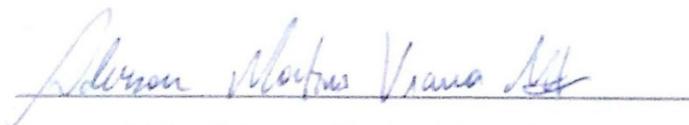
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Arlindo Alencar Araripe Moura (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)



Prof. Dr. Airton Alencar Araújo (Conselheiro)
Universidade Federal do Ceará (UFC)



M.Sc. Aderson Martins Viana Neto
Universidade Federal do Ceará (UFC)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que até aqui me ajudou e me manteve de pé diante das dificuldades, nunca me deixando faltar esperanças.

À Universidade Federal do Ceará, por tantos anos maravilhosos proporcionados na graduação e por inúmeras oportunidades de aprendizados oferecidas.

Aos meus pais, Maria Alice Rodrigues Pessoa e Edmilson Barreto Pessoa, que nunca me deixaram faltar nada. Que sempre fizeram das tripas coração para que seus filhos tivessem as melhores oportunidades possíveis. Principalmente minha mãe, exemplo de mãe, esposa e amiga. Personificação de amor na minha vida. Se hoje em dia eu sou a pessoa que sou e tenho um coração bom, foi por causa da senhora. Sempre me ensinando a ser humilde, ético, grato e principalmente amando meus próximos. Obrigado por tudo. Eu te amo do fundo do meu coração!

Ao meu orientador Prof. Dr. Arlindo de Alencar Araripe Moura, por sua orientação, paciência e confiança durante boa parte da graduação.

Ao Prof. Dr. Rodrigo Freitas Bittencourt pela oportunidade concedida de poder estagiar no Setor de Reprodução da UFBA, bem como todos os ensinamentos repassados durante o estágio.

A todos meus professores tanto do Departamento de Zootecnia como de outros departamentos pela confiança, competência, paciência e ensinamentos durante toda a graduação.

Às minhas irmãs, Andréa e Alexandra Pessoa, por sempre me apoiar e me motivar a ir além. Obrigado por existirem!

Às minhas segundas, terceiras e quartas mães que tenho espalhado por todos os cantos, que sempre que precisar sei que vou poder contar com o apoio e carinho materno. Obrigado Euzimar, Meire e Rita.

Ao meu segundo pai e padrinho, Jonas, que sempre me tratou como um filho e me ensinou muitas coisas sobre a vida.

Às minhas irmãs de outra mãe, Leila e Andrea Sarmento, que sempre acreditaram e lembraram-se de mim em cada data especial de vida.

Ao meu maior amigo de infância, Rodrigo Ermeson, que sempre esteve do meu lado em todos os momentos do meu crescimento. Não me lembro nem quem era Eduardo antes de te conhecer.

Aos meus velhos amigos, Elisângela Paiva, Jessica Lange, Ruben Ryan, Zeca Juliano, Thayanara Ribeiro, Lili Paiva, Sabrina Silva, Lucas Batista e Wesley Alencar, que mesmo que o caminho tenha nos afastado um pouco, os carrego aqui bem perto para onde quer que eu vá. Obrigado por cada oração, cada palavra de apoio e cada ombro amigo. Vocês foram cruciais para a definição de “amizade” na minha vida.

Aos meus amigos de colégio, Brenda Rebouças, Marília Candido, Fabrícia Diniz, Gabriel Theophilo, Lucas Marques, Bruno Kardoso, Larry Filho, Iohanna Farias, Leon Reis e Samuel Monteiro. Obrigado por todos os momentos de distração durante o colégio que fizeram o caminho do ensino médio até a faculdade mais fácil de caminhar. Obrigado também por terem continuado em minha vida depois do colégio. Vocês são badboys. Amo vocês.

Aos amigos de cada evresta, Estêvão Fernandes, Felipe Carvahêdo, Bárbara Leal, Rolf Freitas, Luana Ribeiro, Bárbara Arraes, Emanuelle Meireles, Matheus Cosme, Giulliana Corrêa, Tafnes Varela, Lucas, Eliseu Amaral, Caio Rondon e Daniel Correia. Uns conheço a muito mais tempo e outros conheci a pouco, porém cada um de vocês têm um espaço guardado no meu coração por cada momento que passamos juntos e que eu fui feliz. Obrigado por fazerem me sentir especial e incluído. Vocês são demais!

Ao meu amigo Yuri Duarte, por ter suportado comigo a barra em cada momento difícil, por ter me aconselhado sempre a ser uma pessoa melhor, independente do que estivesse acontecendo comigo e ter me ajudado a passar por várias tempestades. Você é um grande sol em minha vida e na vida dos que o rodeiam. Obrigado!

Ao meu amigo Rafael Rodrigues, por sempre estar por perto nos momentos que eu preciso, por me ajudar nas disciplinas, por me aconselhar na vida e por me acompanhar em muitos momentos felizes. Obrigado pelos golden times!

Ao quarteto fantástico, Andreza Vasconcelos, Bruno Bizerra e Jander Fabrício, que foram de crucial importância para toda minha formação acadêmica e pessoal. Obrigado por cada ajuda, cada momento de desespero,

de alegria e descontração compartilhado. Eu não sei como agradecer a imensidão da importância que vocês foram pra mim. Eu não sei onde eu estaria ou como eu estaria se não fosse por vocês ao meu lado. Obrigado por tudo!

Aos meus amigos e colegas de graduação, aos quais sou muito grato por toda a ajuda disponibilizada para minha formação. Um agradecimento especial para Ana Carolina Paulino e Barbara Helena, que sempre estiveram por perto me apoiando e me motivando em cada decisão. Vocês são simplesmente maravilhosas!

A todos meus companheiros do Laboratório de Fisiologia Animal que durante todos esses anos, me ajudaram, me motivaram e me acolheram com muito carinho. Um agradecimento especial ao Aderson Viana, pelas tão constantes críticas construtivas e à Kamila Sousa, por aturar meu drama diário.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Reprodução Animal, da UFBA. Obrigado pelo acolhimento e por cada ensinamento.

À minha parceira de supervisionado, Laís Souza, pelo companheirismo e pela ajuda fornecida durante o estágio e fora dele. Depois da sua chegada em Salvador os dias ficaram muito mais fáceis de lidar; só não lhe perdoe por ter demorado um mês. Obrigado por tudo!

Aos meus amigos de Salvador, Ayrton Cerqueira, que sempre me motivou a ir para essa cidade maravilhosa, Stephanie Fontes, Clara Albuquerque e Isadora Alves, que me fizeram perceber que se pode encontrar amigos em qualquer canto do mundo. Obrigado pelo apoio e pelos momentos de risada!

À minha família de Salvador, Dona Edite, Pedro, Paulo, Mateuza, Kevin e Paula Alves. Obrigado por todo o suporte e por terem feito eu me sentir em casa.

E a todos que de forma direta ou indiretamente contribuíram para minha formação. Muito obrigado!

RESUMO

A pecuária brasileira vem aplicando técnicas que visam o aperfeiçoamento dos programas de melhoramento genético e ampliação de rebanhos puros. Dentre essas técnicas, encontram-se a inseminação artificial (IA), inseminação artificial em tempo fixo (IATF), avaliação seminal e congelamento de sêmen. Este trabalho descreve biotécnicas reprodutivas realizadas no estágio supervisionado no Laboratório de Reprodução Animal (LABORA), localizado em Salvador, e na Fazenda Experimental de Criação de Entre Rios (FEER), localizada no município de Entre Rios, a 140 Km de Salvador; ambas propriedades da UFBA. As espécies trabalhadas foram bovinos, bubalinos, ovinos e equinos.

Palavras-chave: Biotecnias reprodutivas. Produtividade. Bahia.

ABSTRACT

Brazilian livestock farming has been applying techniques that aim to improve breeding programs and increase pure herds. Among these techniques are artificial insemination (AI), fixed-time artificial insemination (TAI), semen evaluation and semen freezing. This work describes reproductive biotechnics performed at the internship required at the Animal Reproduction Laboratory (LABORA), located in Salvador, and the Experimental Breeding Farm of Entre Rios (FEER), located in the municipality of Entre Rios, 140 km from Salvador; both properties of UFBA. The species studied were cattle, buffaloes, sheep and horses.

Keywords: Reproductive biotechniques. Productivity. Bahia.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS	12
3. LOCAL DO ESTÁGIO	13
3.1 Laboratório de reprodução animal (LABORA)	13
3.2 Fazenda Experimental de Criação de Entre Rios (FEER)	13
4. ATIVIDADES REALIZADAS E ACOMPANHADAS	15
4.1 Diagnóstico de gestação	15
4.1.1 Exame retal ou palpação.....	15
4.1.2 Ultrassonografia	16
4.2 Coleta de sêmen de ovinos e equinos	17
4.2.1 Material utilizado	17
4.2.2 Montagem da vagina.....	17
4.2.3 Coleta.....	18
4.3 Avaliação seminal	19
4.3.1 Material utilizado	21
4.4 Congelação e descongelação do sêmen equino	21
4.4.1 Materiais utilizados.....	23
4.5 Sincronização de cio	24
4.5.1 Vacas e búfalas.....	24
4.5.1.1 Sincronização da emergência da onda folicular.....	24
4.5.1.2 Finalização da fase lútea de forma sincronizada.....	25
4.5.1.3 Sincronização das ovulações	25
4.5.2 Ovelhas	26
4.6 Inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em bovinos e bubalinos . 28	
4.6.1 Material utilizado	29
4.6.2 Inseminação Artificial.....	29
4.6.2.1 Montagem do aplicador	29
4.6.2.2 Inserção da pipeta	30
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	32
REFERÊNCIAS	33

1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento econômico de um país é afetado diretamente pelas suas atividades agropecuárias (BRASIL, 2014), que é a principal atividade econômica brasileira, atingindo um PIB de R\$ 1,26 trilhão, que equivale a 21% do PIB do país (ABIEC, 2016). O Brasil proporciona condições naturais, como energia solar abundante, grande abrangência territorial possível de ser usada para agricultura, clima diversificado e 13% de toda água doce do mundo.

Em números absolutos, o Brasil contém, em cabeças, 215.199.488 milhões de bovinos, 1.365.636 milhão de bubalinos e 5.551.238 de equinos e 18.410.551 milhões de ovinos. Sendo, dentre estes, o rebanho bovino um dos maiores do mundo, perdendo apenas para Índia (IBGE, 2016). Hoje, o principal sistema utilizado para grande parte das espécies é o regime de monta natural, que acarreta lentidão no crescimento genético e produtivo dos rebanhos. (VISHWANATH, 2003).

Dentro desse contexto, a pecuária brasileira vem aplicando técnicas que visam o aperfeiçoamento dos programas de melhoramento genético e ampliação de rebanhos puros. Também vem procurando melhorias na nutrição pastagens e controle sanitário, além de capacitação da mão-de-obra, já que a procura do mercado por animais geneticamente superiores vem demandando a formação de trabalhadores qualificados (VEIGA, 1974; LUCY, 2007). Dentre essas técnicas, encontram-se a inseminação artificial (IA), inseminação artificial em tempo fixo (IATF), avaliação seminal e congelamento de sêmen (FIGUEIREDO, 2008).

2. OBJETIVOS

Objetivou-se por meio deste relatório descrever as atividades desenvolvidas durante a disciplina de Estágio Supervisionado realizadas no setor de reprodução animal da UFBA, a fim de aprimorar os conhecimentos práticos e teóricos adquiridos durante a graduação referente às áreas de reprodução animal e biotécnicas aplicadas na bovinocultura, bubalinocultura, equinocultura e ovinocultura.

3. LOCAL DO ESTÁGIO

3.1 Laboratório de reprodução animal (LABORA)

O Laboratório de Reprodução Animal (LABORA) é coordenado pelo Prof. Dr. Antônio de Lisboa Ribeiro Filho, e fazem parte de sua equipe os professores Dr. Marcos Chaloub Coelho Lima, Dr. Rodrigo Freitas Bittencourt, Dr. Marcus Vinicius Galvão Loiola e Dr. Carmo Emanuel Almeida Biscarde. As principais linhas de pesquisas desenvolvidas são na área de andrologia, inseminação artificial em pequenos animais, inseminação em tempo fixo em ruminantes e equinos, criopreservação espermática de diversas espécies e ginecologia, sendo ainda responsável pela produção e manutenção de um banco de germoplasma com diferentes espécies domésticas e silvestres. Além disso, o laboratório também dá suporte a atividades de extensão e ensino.

3.2 Fazenda Experimental de Criação de Entre Rios (FEER)

Existem duas fazendas Experimentais da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia (FEEMVZ) na UFBA, uma localizada no distrito de Sergi Mercê, município de São Gonçalo dos Campos, a aproximadamente 110 km de Salvador, possuindo 100 hectares, e outra, onde foi o foco principal deste TCC, a Fazenda Experimental de Criação de Entre Rios (FEER), tem uma área de 360 hectares e é localizada no município de Entre Rios, a 140 Km de Salvador. Os professores responsáveis pela mesma são o Prof. Ms. Ricardo Diniz Guerra e Silva e o Prof. Dr. José Esler de Freitas Júnior.

A FEER é composta pelos setores de bovinocultura de leite/corte, bubalinocultura de corte/leite, caprinocultura de leite, ovinocultura, apicultura, equideocultura e avicultura. No setor de bovinos, há um rebanho de 70 matrizes mestiças das raças Holandesa, Girolando, Jersey e Gir e 15 matrizes da raça Nelore. Já no rebanho de búfalas, há 45 matrizes das raças Mediterrâneo e Murrah. Ambas as culturas estão em sistema de pastejo contínuo.

Os setores de bubalinocultura e bovinocultura de corte, são rebanhos em desenvolvimento. O desejo da universidade é aumentar o número de cabeças para possibilitar melhores pesquisas na área de produção de carne

e leite, por mais que, atualmente, esteja sendo realizada algumas pesquisas na área de reprodução, voltado para dinâmica folicular.

O setor que acomoda essas duas culturas é constituído por uma sala de ordenha, esta é composta por ordenhadeiras mecanizadas, há também um tanque de expansão para armazenamento de leite e um almoxarifado para o depósito de medicamentos e rações. Além disso, encontra-se três currais que dão acesso ao brete, no qual são realizados os manejos como vacinação, ultrassonografia, coleta de sangue, palpação e entre outros.

O intuito de ambas as fazendas é aperfeiçoar as atividades de ensino, pesquisa e extensão, permitindo aos alunos um maior contato com o campo e um conhecimento prático do que é visto em aula, além de servir como polo para a geração e difusão de tecnologias tanto para o meio científico como para o meio rural. Muitas atividades são realizadas nas FEEMVZ, como aulas, visitas técnicas, dias de campo, experimentos, cursos de extensão, projetos, capacitação, realização de leilões etc.

O setor de ovinos possui um rebanho de 60 matrizes da raça Santa Inês e reprodutores das raças Santa Inês, Dorper e Morada Nova, sendo os dois últimos geralmente usados como rufiões. O sistema de pastejo é contínuo e a de modo que os animais são abrigados em aprisco de piso suspenso, composto por 5 baias.

Imagem 1: Entrada da Fazenda Experimental de Criação de Entre Rios (FEER)



Fonte: Arquivo pessoal

4. ATIVIDADES REALIZADAS E ACOMPANHADAS

4.1 Diagnóstico de gestação

O diagnóstico de gestação é uma ferramenta utilizada para identificar mais eficiente e precocemente a gestação, obtendo uma melhor eficiência reprodutiva do rebanho, fator contribuinte para sua maior lucratividade e produtividade, além de antecipar a identificação de problemas de fertilidade (GROHN & RAJALA-SCHULTZ, 2000).

4.1.1 Exame retal ou palpação

A palpação retal é um método de diagnosticar a gestação utilizado em búfalas, vacas e éguas, onde se introduz uma das mãos no reto para fazer a palpação. Antes de iniciar qualquer protocolo de sincronização de cio para posterior inseminação artificial ou monta controlada, eram realizadas palpações retais, de modo que os animais eram alocados nos currais e posteriormente direcionados para o tronco de contenção.

Com as mãos higienizadas e secas, vestia-se a luva de palpação retal e a lubrificava com uso de lubrificante industrializado ou caseiro, para facilitar a passagem. As fezes eram retiradas para facilitar a manipulação, e o útero era palpado com o objetivo de perceber a presença/ausência de: corpo lúteo, deformidades ou aumento uterino (sinal de gestação).

No caso das vacas e búfalas era possível distinguir o corpo lúteo completamente desenvolvido em um dos ovários, no primeiro mês, acompanhado de um relaxamento uterino. No segundo mês já era possível sentir um acréscimo no tamanho do corno do útero onde houve a fertilização por causa do líquido advindo da gestação. No terceiro mês, ocorria a decida do útero e o feto já era palpável. Nesse período tinha-se que tomar cuidado com a manipulação para não lesionar alguma estrutura e prejudicar o desenvolvimento da gestação.

Imagem 2: Palpação retal em búfalas.



Fonte: Arquivo pessoal

4.1.2 Ultrassonografia

Após a palpação, era feito a ultrassonografia nos animais, que se caracteriza por ser uma técnica não invasiva (GONZÁLEZ *et al.*, 2004), que consiste em inserir o transdutor (sonda de 5 a 7 MHz) pelo reto das vacas, búfalas e ovelhas, e permite diagnosticar a prenhez, confirmar a viabilidade fetal e determinar o número de fetos. Qualquer coisa que interfira nas ondas geradas pela sonda, reflete as mesmas e gera uma imagem que é transmitida no monitor. A partir dessas imagens podemos medir e identificar diferentes estruturas e aferir um diagnóstico de gestação (HAFEZ *et al.*, 2004). Após a realização do DG, as fêmeas gestantes eram realocadas para um lote específico de fêmeas em gestação, do contrário, dava-se prosseguimento ao protocolo utilizado.

A diferença na ultrassonografia entre vacas/búfalas para ovelhas, é que nas primeiras, a mão adentra o animal para acompanhar o transdutor no percurso ao útero. Realizou-se também a ultrassonografia transabdominal, nas ovelhas, de modo que o transdutor é passado apenas na superfície abdominal com a ajuda de um gel próprio para o processo. Para uma ultrassonografia mais eficiente, fazia-se a tricotomia, que consiste na retirada dos pelos do abdômen com uma lâmina cirúrgica ou de barbear.

Durante o estágio, foi ainda possível acompanhar ultrassonografia em cães e gatos. Os animais eram colocados de barriga para cima (decúbito

dorsal) em uma maca de alumínio com um colchão de suporte (calha), seguido por tricotomia e ultrassonografia transabdominal.

4.2 Coleta de sêmen de ovinos e equinos

A coleta de sêmen pode ser feita por duas técnicas: vagina artificial e eletroejaculação. A vagina artificial é um método utilizado para a maioria das espécies de animais, além de ser a melhor técnica por simular a monta natural. (HAFEZ *et al.*, 2004), enquanto na eletroejaculação, geralmente utilizado para garanhões velhos ou que não se estimulam mais com a vagina artificial, ocorre a introdução de um eletrodo no reto do macho, então a voltagem é aumentada gradualmente até que ocorra a ejaculação.

Os carneiros eram coletados 2 vezes por dia durante 2 dias por semana para posterior congelação do sêmen. Os mesmos recebiam 20 ml por dia do suplemento vitamínico JRC Reproductive Garanhões[®]. Foram também coletados sêmen de equino para congelação. O garanhão utilizado para a coleta e congelação de sêmen não pertencia à faculdade, mas a um haras localizado no interior da Bahia, no município de Santo Antônio de Jesus, que tinha parceria com o setor de reprodução da UFBA.

4.2.1 Material utilizado

- Copo coletor
- Funil
- Garrafa térmica
- Mergulhão (ebulidor)
- Recipiente com água
- Termômetro
- Vagina Artificial

4.2.2 Montagem da vagina

Antes do processo colocava-se água para aquecer a vagina artificial, de modo que a temperatura interna fosse de 37° C para ovinos, e entre 42° a 45°C para equinos, se assemelhando com a temperatura da fêmea. Chegando ao local amarrava-se os animais e montava-se a vagina artificial. Vestia-se um tubo falcon[®] de 50 ml em uma camisinha e o passava por dentro da vagina artificial própria. Prendia-se a camisinha numa das pontas da vagina.

Posteriormente, aferia-se a temperatura da água, caso não tivesse ideal, misturava-se água quente com fria até alcançar 37°C. Adicionava-se a água dentro da vagina, e na hora de fechá-la, colocava-se um pouco de pressão, com objetivo de obter a máxima semelhança de temperatura e pressão vaginal observadas no canal vaginal das fêmeas.

4.2.3 Coleta

Após montada a vagina artificial, seguia-se para coleta. Colocava-se um cabresto no carneiro para facilitar o manejo, e a ovelha era contida para evitar movimentação impedindo que o carneiro a montasse. Lavava-se a área do pênis do carneiro, a fim de não haver contaminação no sêmen. Enquanto uma pessoa segurava o macho, outra segurava a fêmea e uma outra ficava com a vagina artificial na mão preparada para a hora da monta e ejaculação. Assim que o carneiro montava, desviava-se o pênis para dentro da vagina artificial e esperava-se pela ejaculação. Após a coleta, fechava-se o tubo falcon® e o protegia do contato com a luz.

Vale salientar alguns fatores que podem dificultar a coleta: temperatura e pressão dentro da vagina artificial, maior tamanho da fêmea em relação ao macho, não aceitação de monta da fêmea e, piso com declividades ou esburacados. Esses foram 4 dos principais fatores que ocorriam quando o carneiro demorava a ejacular.

Em equinos, após a montagem da vagina artificial, seguia-se para o local onde ia ocorrer a coleta. Foi utilizada uma fêmea no cio para o procedimento. Logo que o macho a montava, pegava-se na base do pênis e o desviava para dentro da vagina artificial, a segurava firmemente e esperava pela ejaculação. Após o arranque final, o garanhão ficava visivelmente mais relaxado e perdia um pouco do interesse na fêmea (período refratário). Antes que ele finalizasse a monta, a vagina artificial era retirada verticalmente, para que o ejaculado passasse pelo filtro e fosse depositado na garrafa de coleta.

É de extrema importância que as éguas utilizadas sejam dóceis, aceitem monta facilmente ou que estejam no cio, assim, naturalmente ela estará apta para monta. A utilização de fêmeas que não correspondem a essas características dificulta a coleta e por serem animais de grande porte, pode resultar em riscos para os manejadores.

Imagem 3: Coleta de sêmen equino.



Fonte: Arquivo pessoal.

4.3 Avaliação seminal

O exame andrológico, que auxilia, também a estimar o potencial reprodutivo do macho, se faz necessário sempre que se deseja, comercializar o sêmen, iniciar a estação de monta, realizar a criopreservação entre outros. As condições reprodutivas mais atuais de um macho são validadas pelo exame andrológico.

A avaliação seminal (espermograma) representa a análise das condições do sêmen, para avaliação das características quantitativas e qualitativas do sêmen. O laudo da andrologia tem de ser feito com determinada frequência, pois o animal pode ser exposto a patologias ou situações que depreciem a qualidade do seu sêmen.

Após a coleta o sêmen era levado para o laboratório, e então analisado e congelado. Sempre que possível, o local de coleta deve ser o mais perto do local de análise, para que o sêmen não perca suas características e os testes feitos sejam os mais próximos do real. Para otimização de tempo, também é ideal deixar todo o material pronto para ser utilizado.

Chegando ao local, despejava-se o ejaculado num tubo falcon[®] e verificava-se o volume e a cor do ejaculado. Posteriormente, colocava-se uma gota de sêmen entre uma lâmina já aquecida em uma placa aquecedora a uma temperatura de 37° C. A lâmina era colocada no microscópio para visualização da motilidade, vigor e turbilhonamento. A motilidade total diz qual a

porcentagem de espermatozoides móveis, variando em uma escala de 0 a 100%. Numa escala de 0 a 5, era analisado o vigor espermático, que consiste em avaliar a velocidade e direção que o espermatozoide se desloca. No turbilhonamento, observava-se a movimentação em formato de ondas nas bordas da gota de sêmen. Classificado de 0 a 5.

Os valores ideais para motilidade e vigor eram, respectivamente, maiores ou iguais a 70% e maior ou igual a 3.

Fazia-se também, a viabilidade dos espermatozoides através do teste de eosina, que é um corante supravital avermelhado. Se os espermatozoides permitissem que o corante ultrapassasse a membrana, ele é tido como não viável, pois logo, teria uma lesão na membrana. O corante deve ficar concentrado ao redor da cabeça do espermatozoide, caracterizando a membrana como ílesa.

Posteriormente, aferia-se a concentração espermática. Por mais que o ejaculado de equino não seja tão concentrado, era necessário fazer uma diluição para uma melhor contagem. Diluía-se 10 ul do sêmen em 500 ul de solução formol salina aquecida e a homogeneizada. Essa solução tem como objetivo ocasionar a morte dos espermatozoides a fim de facilitar a análise. Preparava-se a Câmara de Neubauer e fazia a contagem nos 5 quadrados diagonais da câmara com a ajuda de um contador. Após a soma dos espermatozoides contados, fazia-se a média aritmética e aplicava-se na fórmula: N° médio de sptz contados $\times 2,5 \times 10^6$. O resultado indica a concentração de sptz/ml.

Imagem 4: Avaliação seminal.



Fonte: Arquivo pessoal

4.3.1 Material utilizado

- Caderno/Ficha de anotação;
- Calculadora;
- Câmera de Neubauer;
- Caneta/Lápis;
- Contador;
- Lâminas;
- Lamínulas;
- Mesa aquecedora;
- Microscópio;
- Papel toalha;
- Pipetas graduadas;
- Solução formol-salina;
- Tubos de centrifugação.

4.4 Congelação e descongelação do sêmen equino

Cada vez que os procedimentos de inseminação artificial atingem um nível mais elevado de desenvolvimento, há a necessidade que as técnicas de manipulação de sêmen acompanhem. Em 1907, Elias Ivanov conseguiu substituir líquidos produzidos pelas glândulas anexas por um soro artificial, criando assim o meio conservador de sêmen. A partir de então o aprimoramento de diluidores foi responsável pela propagação da técnica tanto de congelação de sêmen quanto de IA (FOOTE *et al.*, 2002).

Os índices de fertilidade com sêmen equino congelado são menores que na maioria das outras espécies domésticas, a partir disso a criopreservação se torna uma grande ferramenta para o melhoramento genético da espécie equina, pela maximização do uso de bons reprodutores e aperfeiçoamento das técnicas (FÜRST *et al.*, 2005).

Após as análises de concentração, motilidade, volume, turbilhamento e vigor espermático, diluía-se o sêmen em BotuSêmen[®] na concentração de 2:1 e centrifugava-se por 10 min, na velocidade 2 (2000rpm) da centrífuga utilizada, Excelsa Baby 2 Fanem Mod.206[®]. Enquanto isso, verificava-se o número de palhetas necessárias para congelação. Cada palheta

de 0,5 ml deveria conter 100 milhões de espermatozoides viáveis. Para saber o número de espermatozoides viáveis foi utilizado a seguinte fórmula:

Volume x Concentração espermática x Motilidade Total

Por exemplo:

- Volume do ejaculado = 75 ml
- Motilidade espermática = 85%
- Concentração espermática: 63 milhões/ml

$EV = 75 \times 63 \times 10^6 \times 0,85 = 4.016.250.000$ espermatozoides viáveis

$N^\circ \text{ palhetas} = 4.016.250.000 / 100 \times 10^6 = 40,16$

Ou seja, seria necessário, aproximadamente, 41 palhetas.

Após a centrifugação, desprezava-se o sobrenadante e os pellets eram ressuspensos no diluidor de congelação, porém era necessário um cálculo prévio da quantidade de Botucrio[®], que foi o diluente utilizado. Cada palheta contém 0,5mL, multiplicava-se, então, esse volume pelo número total de palhetas e encontrava-se o volume final de ressuspensão.

Por exemplo,

$0,5 \times 41 = 20,5 \text{ ml.}$

Os diluidores de sêmen são adicionados na fase de congelação a fim de possibilitar uma melhor proteção dos espermatozoides. Para o bom funcionamento desses diluidores, estes são aquecidos em banho maria a 37°C, pois essa temperatura simula a dos órgãos sexuais, dando um conforto térmico ao espermatozoide (OLIVEIRA *et al.*, 2010).

Após identificar as palhetas com o nome do macho e a data do congelação, aspirava-se o sêmen com Botucrio[®] deixando uma bolha a cada meio centímetro e fechava-se a palheta em álcool polivinílico. Refrigerava-se as palhetas a 4°C por 25 min em um refrigerador móvel. Logo em seguida, as mesmas eram submetidas a uma rápida refrigeração, onde eram colocadas em uma rack a 4 cm acima do nível de nitrogênio líquido, em uma caixa de isopor.

Após 15 minutos, retirava-se a rack e as palhetas eram derrubadas diretamente no nitrogênio.

Alguns defeitos parcialmente irreversíveis aos espermatozoides decorrem da etapa de refrigeração, pois, quando não realizada de modo adequado pode causar choque térmico que acarreta em problemas como redução da atividade metabólica, lesões no acrossoma e na membrana plasmática, anomalias de movimento, etc (GRAHAM, 1996).

Para a descongelação do sêmen, pegava-se uma palheta, com a ajuda de uma pinça e um papel toalha, para não queimar as mãos no nitrogênio, e a tirava do botijão. Logo em seguida, a palheta era depositada em um recipiente com água pré-aquecida a 37° C, durante 1 minuto. Retirava-se a palheta do banho-maria e a secava com um papel-toalha para que não houvesse contaminação da água no sêmen. Cortava-se o lacre com uma tesoura e colocava-se o sêmen em um eppendorf. Verificava-se vigor, concentração e motilidade espermática pós-descongelação. Os níveis aceitáveis para que a dose fosse apta à inseminação artificial era possuir motilidade total maior ou igual a 50 e vigor maior ou igual a 3. Se o sêmen tivesse apto, as doses eram colocadas na pipeta para posterior inseminação.

4.4.1 Materiais utilizados

- Álcool polivinílico;
- Banho-maria;
- Botijão de Nitrogênio;
- Botucrio®;
- BotuSêmen®;
- Caderno de anotação;
- Calculadora;
- Caneta/Lápis;
- Caneta de tubo fina;
- Centrifuga Excelsa Baby 2 Fanem Mod.206®;
- Isopor;
- Palhetas;

- Papel toalha;
- Rack;
- Refrigerador;
- Termômetro;
- Tubos de centrifugação.

4.5 Sincronização de cio

Os protocolos de sincronização para IATF objetivam sincronizar a emergência de uma nova onda de crescimento folicular, a finalização da fase lútea e a ovulação em todos os animais simultaneamente (BARUSELLI *et al.*, 2007). A sincronização do cio para a técnica de IATF torna possível que os animais sejam inseminados e fiquem prenhes no início da estação de monta. Isso é importante, pois, além de melhorar o controle zootécnico e focar a mão de obra em um período específico, ainda diminui o período de serviço e aumenta a eficiência reprodutiva dos animais (MOREIRA, 2002). Com esta técnica, todo o ciclo reprodutivo pode ser controlado pela equipe encarregada da tarefa, sendo possível inseminar um número grande de animais em um único dia. Podendo programar a inseminação, o nascimento dos bezerros/borregos e os dias que precisará de mais mão-de-obra (BARUSELLI, 2004).

Existem vários tipos de protocolo, variando o tipo de hormônio utilizado, o tempo de aplicação, etc. A escolha de qual será empregado depende da disponibilidade de tempo e de dinheiro da equipe que realizará a operação.

4.5.1 Vacas e búfalas

4.5.1.1 Sincronização da emergência da onda folicular.

O primeiro passo para um protocolo é sincronizar a emergência da onda folicular. Para isso, podem ser aplicados GnRH, progesterona e estradiol. Esses hormônios agem nos folículos que estão em crescimento, induzindo-os a entrar em atresia. O dispositivo de progesterona juntamente com o estrógeno mantém o nível níveis de LH baixo. A nova onda folicular acontece em 3 a 4 dias após a aplicação (Hafez e Hafez, 2004)

No dia 0 do protocolo, aplicou-se 2mg de E₂ (benzoato de estradiol) e colocou-se o implante de progesterona (DIB). Nas búfalas, além desses dois citados por último, foi aplicado 2ml de PGF₂α.

4.5.1.2 Finalização da fase lútea de forma sincronizada.

O segundo passo é a finalização da fase lútea de forma sincronizada. Para isso, no dia 9, tirou-se o implante com P₄ e aplicou-se 12,5 mg de PGF₂α. Nas búfalas, aplicou-se também 2 ul de eCG, a fim de fazer as fêmeas em anestro ciclarem novamente.

Com a retirada do implante, os níveis de LH sobem, pois a progesterona já não exerce mais o feedback negativo, e a aplicação de PGF₂α cessa a liberação de P₄ endógena e induz a regressão do corpo lúteo em fase responsiva, pela sua ação luteolítica. A inseminação acontece sempre 48 horas da retirada do implante de P₄ (HORTA, 1985).

4.5.1.3 Sincronização das ovulações

O terceiro passo do protocolo é sincronizar as ovulações. Para isso, no dia 9, aplicou-se E₂ (cipionato de estradiol). Após a diminuição da progesterona, o estrógeno possui efeito oposto, induzindo o pico de LH e a ovulação. Não se optou pelo benzoato de estradiol, pois a aplicação teria que ser um pouco mais próxima da inseminação, pelo motivo do benzoato de estradiol ter uma vida útil mais curta, aumentando um dia de manejo ao protocolo. O cipionato, por ter uma vida útil mais prolongada, pôde ser aplicado no mesmo dia que se tirou o implante. Esse hormônio tem um efeito oposto após a diminuição da progesterona, induzindo liberação de LH e FSH e a ovulação (HAFEZ,1995).

Já nas búfalas, optou-se pela aplicação de 1ml de Benzoato de Estradiol, no dia 10, a fim de sincronizar a ovulação e realizar a inseminação no dia 11 do protocolo.

Gráfico 1: Linha do tempo do protocolo de sincronização do cio em vacas.



Gráfico 2: Linha do tempo do protocolo de sincronização do cio em búfalas.



Imagem 5 e 6: aplicação de hormônios em vacas e seleção de ovelhas para início do protocolo de sincronização de cio.



Fonte: Arquivo pessoal

4.5.2 Ovelhas

Foi realizado diagnóstico de gestação nas ovelhas da raça Santa Inês, através de ultrassonografia transabdominal, e subdivididas em ovelhas com DG positivo e com DG negativo. As fêmeas com DG negativo foram selecionadas para entrar no protocolo de sincronização de cio.

No dia 0, colocou-se o implante de progesterona em todas as ovelhas. Apenas um carneiro foi utilizado como reprodutor, então separou-se as ovelhas em 4 lotes, para, assim, evitar o desgaste excessivo do macho.

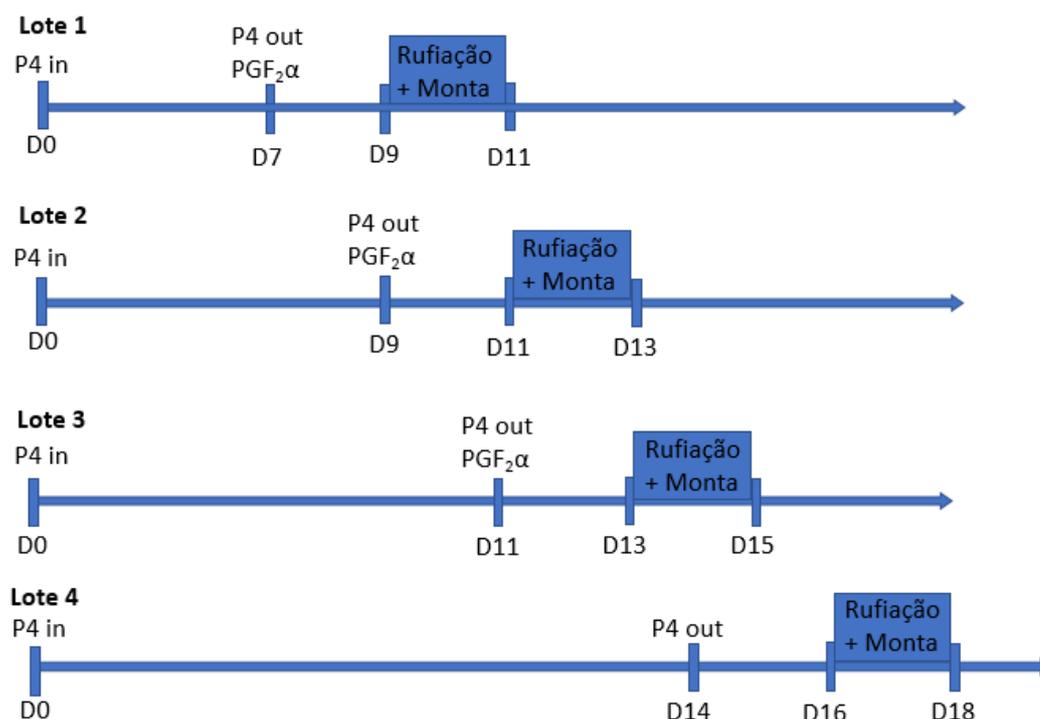
As retiradas de implante do lote 1, 2, 3 e 4 ocorreram, respectivamente, nos dias 7, 9, 11 e 14 do protocolo, juntamente com a

aplicação de $\text{PGF}_2\alpha$ (Sincrocio[®]) que atua na luteólise de corpos lúteos existentes, que porventura possam afetar a sincronização. Vale ressaltar que o lote quatro foi uma exceção à regra diante dos lotes anteriores. O implante de progesterona foi retirado com um espaço de 3 dias por conta da disponibilidade da equipe de manejo, e não houve aplicação de $\text{PGF}_2\alpha$, pois, pelo tempo, não deveria existir mais corpos lúteos para lise.

A rufiação dos lotes acontecia sempre com 48 horas da retirada do implante. Colocava-se o rufião pela manhã e pela tarde, durante dois dias e realizava-se a observação do cio através da tentativa da monta do macho, do reflexo de flehmen e, principalmente, da aceitação da monta pela fêmea. Se uma fêmea fosse identificada no estro, ela era marcada com o auxílio de um bastão marcador, sendo diferentes para cada lote de ovelhas, a fim de facilitar o manejo. As matrizes eram levadas de uma a uma para a baia do reprodutor e então confirmado o cio e a realização da cópula, caracterizando a monta dirigida.

Se a fêmea apresentasse estro/cio pela manhã, a mesma era coberta pelo reprodutor à tarde, caso o cio fosse identificado a tarde, a cobertura era feita na manhã seguinte.

Gráfico 3: Linha do tempo do protocolo de sincronização do cio em ovelhas.



4.6 Inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em bovinos e bubalinos

Bioteχνologias aplicadas à reprodução animal contribuem positivamente para o melhoramento genético. A Inseminação Artificial em Tempo Fixo, vem ganhando grandes proporções e impactando economicamente a produção de bovinos, aumentando a produção por hectare, através de cruzamentos indústrias em regiões tropicais, além de melhorar geneticamente o plantel. Porém a realidade é que mesmo com tantas vantagens, poucos proprietários utilizam a inseminação artificial (ASBIA, 2003).

A IATF é um programa reprodutivo que permite a inseminação de vários animais em dias e horários programados. Uma das grandes vantagens dessa técnica é desonerar o alto custo gasto com mão de obra e a difícil observação de cios por longos períodos de tempo, além de alguns animais apresentarem cio à noite, dificultando a observação. Ou seja, diferente da inseminação tradicional, na IATF não há detecção de cio e ainda é capaz de trazer fêmeas do anestro à ciclarem novamente (INFORZATO, G. R *et al.* 2008)

A IATF é implantada no rebanho através de hormônios capazes de sincronizar o cio dos animais desejados para uma data pré-estabelecida, que irá de acordo com a vontade de quem está montando o protocolo de sincronização. Os hormônios ministrados não trazem nenhum prejuízo para a fêmea, pois estes se assemelham com os produzidos endogenamente, e depois que o efeito é finalizado, não interfere em futuros ciclos. (INFORZATO, G. R *et al.* 2008)

Vantagens da Inseminação Artificial (HAFEZ, D; HAFEZ, E. S. E. 2004):

A utilização de sêmen de reprodutores provados, dá a confiança de que os descendentes irão receber características de alta produção, sendo também possível efetuar a redução de doenças reprodutivas, uma vez que a compra do sêmen seja em centrais legalmente firmadas e o controle da qualidade do ejaculado rigoroso.

Através de outros métodos de coleta utilizados, reprodutores de alta genética que por algum motivo não conseguem realizar a monta natural, ainda têm a capacidade de gerar descendentes e mesmo com os animais longe um do outro, é possível fazer a fecundação. Sendo um único ejaculado capaz de

fertilizar várias fêmeas, além da possibilidade da escolha do sexo dos descendentes, através do sêmen sexado.

Além de todas essas vantagens de inseminação artificial, a inseminação artificial em tempo fixo possui algumas mais, como por exemplo: facilitar a utilização de IA em manejo extensivo, induzir cio em animais em anestro, sincronizar doadoras e receptoras para transferência de embrião e reduzir período gasto na observação de cio (TECNOPEC, 2008).

Foram verificados através de palpação e ultrassonografia a presença de animais gestantes ou com algum problema no aparelho reprodutor, como cistos, endometrites, por exemplo. Após fazer a seleção dos lotes, tanto de búfalas como de vacas que entrariam no protocolo, os animais eram reunidos nos currais e direcionados para o tronco de contenção para dar início ao protocolo.

4.6.1 Material utilizado

- Água limpa;
- Botijão de sêmen;
- Recipiente com água;
- Papel toalha
- Termômetro
- Palheta com sêmen
- Aplicador
- Pinça
- Garrafa térmica
- Tesoura

4.6.2 Inseminação Artificial

4.6.2.1 Montagem do aplicador

- Após a descongelação de sêmen, enxugava-se a palheta com papel toalha,
- Dava-se uma leve chacoalhada no sentido da bucha,
- Cortava-se a extremidade da palheta que possuía o lacre

- Encaixava-se a extremidade que foi cortada da palheta no plástico da bainha. (Deve-se atentar para o tipo de palheta está usando, pois há palhetas finas e médias.)

- Introduzia-se o aplicador na bainha, empurrando a palheta até a ponta do tubo.

- Encaixava-se o êmbolo metálico até sentir que encostou na bucha da palheta.

Após a montagem do aplicador, seguia-se para a vaca/búfala para fazer a inseminação artificial propriamente dita.

4.6.2.2 Inserção da pipeta

- Limpava-se a vulva com água para tirar as impurezas que porventura poderiam ir para dentro do trato reprodutivo na passagem da pipeta,

- Seca-se a vulva com um papel toalha,

- Introduzia-se a pipeta com uma inclinação de 45° na vagina, direcionado para cima. Além de facilitar a entrada, evita machucados no canal urinário.

- Depois de introduzido, posicionava-se a pipeta horizontalmente e a levava até o fundo de saco

- Com a outra mão inserida no reto, segurava-se a cérvix e guiava-se a pipeta até o orifício de entrada. (Cuidado para não confundir o fundo de saco (fórnix), que é o final da vagina, com a passagem pela cérvix.)

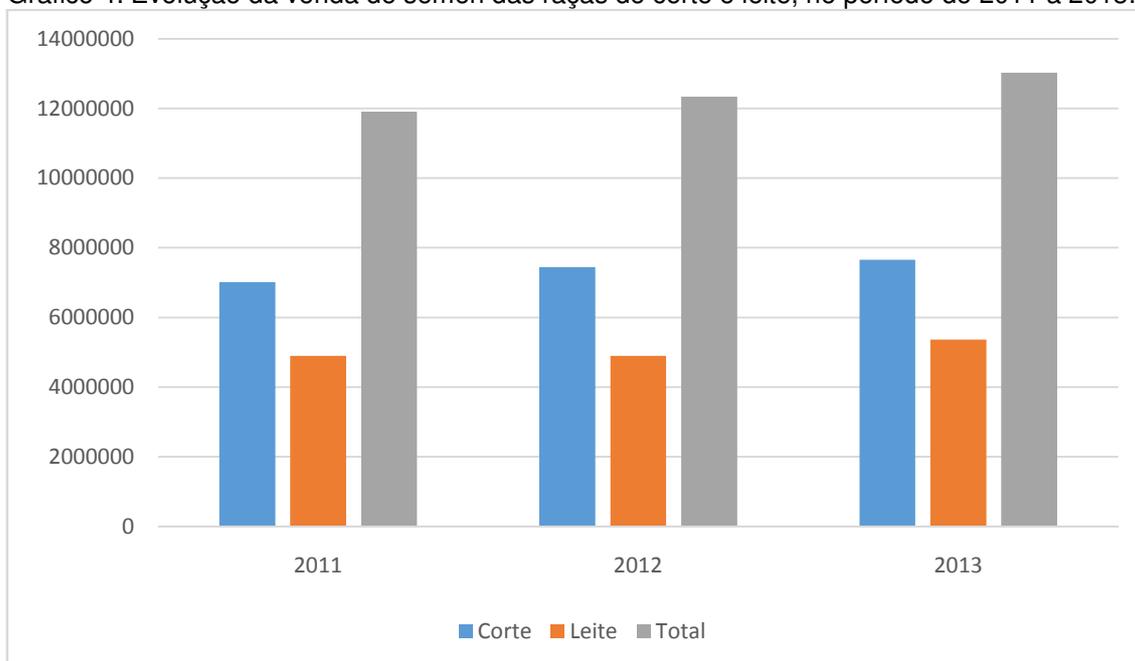
- Após a passagem da pipeta pelo orifício, era hora de passar pelos anéis cervicais, chegando até o corpo do útero, onde é o foco do inseminador.

Obs: O início do corpo uterino é o local ideal para a deposição de sêmen, pois assim os espermatozoides têm a possibilidade de se espalharem pelos dois cornos, garantindo maior chance de fecundação.

- Apertava-se lentamente o êmbolo metálico para que o sêmen fosse depositado.

- Por fim, retirava-se a pipeta e massageava-se a vulva da vaca para estimular as contrações uterinas e facilitar a entrada do sêmen.

Gráfico 4: Evolução da venda de sêmen das raças de corte e leite, no período de 2011 a 2013.



Fonte: Elaborado a partir de dados do Index Asbia, 2013.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O período de vivência de estágio no LABORA/FEER pelo Setor de Reprodução Animal da UFBA, proporcionou a aquisição de conhecimento teórico e prático das biotecnias: inseminação artificial criopreservação, coleta de sêmen e sincronização de estro, além de imensurável crescimento pessoal e profissional.

O conhecimento técnico na área de reprodução animal aliado às práticas acompanhadas durante o período do estágio supervisionado, tanto em laboratório, quanto em campo, foram fundamentais para o engrandecimento como futuro profissional, pois o domínio de biotecnias, tais como as citadas anteriormente, é de grande valia para o profissional de Zootecnia, sabendo da importância das mesmas para o aumento de produtividade do rebanho.

REFERÊNCIAS

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNES. **Perfil da Pecuária no Brasil – Relatório Anual 2016**. Disponível em: < <http://www.crpbz.org.br/PortalUploads/Docs/1256.pdf>>. Acesso em: 16 de nov. 2017.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL (ASBIA) Conselho técnico. **Manual de inseminação artificial**, São Paulo, 2003. 46p.
- BARBOSA, C.F. *et al.* **Inseminação artificial em tempo fixo e diagnóstico precoce de gestação em vacas leiteiras mestiças**. R. Bras. Zootec., v.40, n.1, p.79-84, 2011.
- BARRET, D.M.W.; BARTLEWSKI, P.M.; BATISTA-ARTEAGA, M. *et al.* **Ultrasound and endocrine evaluation of the ovarian response to a single dose of 500 UI of eCG following a 12-day treatment with progestogen-releasing intravaginal sponges in the breeding and nonbreeding season in ewes**. *Theriogenology*, v.61, p.311-327, 2004.
- BARUSELLI, P. S.; MADUREIRA, E. H.; MARQUES, M. O.; RODRIGUES, C. A.; NASSER, L. F.; SILVA, R. C. P.; REIS, E. L.; SÁ FILHO, M. F. **Efeito do tratamento com eCG na taxa de concepção de vacas Nelore com diferentes escores de condição corporal inseminadas em tempo fixo**. *Acta Scientiae Veterinariae* 32 (suplemento), p. 228, 2004
- BARUSELLI, P. S.; REIS, E. L.; MARQUES M. O. **Técnicas de manejo para aperfeiçoar a eficiência reprodutiva em fêmeas bos indicus**. Botucatu: Unesp, 2004.
- BHOSREKAR, M.R. **Semen Production Andartificial Insemination. Published By Baif Development Research Foundation 'Kamdhenu' Senapati Bapat Marg, Pune 411 016 (INDIA) First Edition :25, March. p. 6.1990.**
- COMPÊNDIO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. Intervet: Monika Ptaszynska. cap 2. p. 22. 2007.
- FIGUEIREDO, J.R. **Bioética: repensando o uso das biotécnicas reprodutivas**. *Ciênc. vet. tróp.*, Recife-PE, v. 11, suplemento 1, p.116-118, abril, 2008
- FONSECA, V.O.; VALE FILHO, N.R.; MIES FILHO, A. *et al.* **Procedimentos para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1992, 79p.
- FÜRST, R.; CARVALHO, G. R.; FÜRST, M. C. O.; RUAS, J. R. M.; BORGES, A. M.; MAFILLI, V. **Efeito do resfriamento do sêmen equino sobre sua congelabilidade**. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*, v57, n.5, p. 599-607, 2005.
- GRAHAM, J.K. **Cryopreservation of stallion spermatozoa**. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, v. 12, p. 131-147, 1996.
- GROHN, Y.T.; RAJALA, P.J. **Epidemiology of reproductive performance in dairy cows**. *Animal Reproduction Science*, 2000.

HAFEZ, E. S. E.; **Reprodução animal**. 6a ed. São Paulo: Ed. Manole, 1995. 582p.

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

HORTA, A. E. M. **Controle hormonal da reprodução: terapêutica de distúrbios reprodutivos no pós-parto e sincronização do ciclo**. Departamento de Reprodução Animal. 1985.

IBGE. **PPM: Rebanho bovino alcança a marca recorde de 215,2 milhões de cabeças, mas produção de leite cai 0,4%**. 2016. Disponível em: <<https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/2013-agencia-de-noticias/releases/9802-ppm-rebanho-bovino-alcanca-a-marca-recorde-de-215-2-milhoes-de-cabeças-mas-produção-de-leite-cai-0-4.html>>. Acesso em: 21 de nov. 2017.

INFORZATO, G. R.; SANTOS, W. R. M.; CLIMENI, B. S. O.; DELLALIBERA, F. L.; FILADELPHO, A. L.. **Emprego de IATF (inseminação artificial em tempo fixo) como alternativa na reprodução da pecuária de corte**. Garça, jul. 2008. Disponível em: <<http://www.revista.inf.br/veterinaria12/artigos/edic-vi-n11-Art02.pdf>>. Acesso em: 10 de nov de 2017.

JÚNIOR, A.S.; GIRÃO, R.N. **Manejo reprodutivo de caprinos e ovinos**. Série Aprisco, Volume 2. Teresina: SEBRAE/PI.p.36, 2003.

MARCIEL L.S.C. **Protocolos de sincronização de cio em bovinos. Avaliação da resposta a um esquema Ovsynch modificado em vacas de leite**. 2010.

MARQUES JR. **Manejo Reprodutivo de Bovinos, Ciência Animal**, 22(1), 2012 Palestra apresentada no VI Congresso Norte Nordeste de Reprodução Animal, Fortaleza, CE, Brasil, 27 a 29 de junho de 2012. 2012. p. 250

MOREIRA, R. J. C., **Uso do protocolo Crestar® em tratamentos utilizando benzoato de estradiol, PGF2 α , PMSG e GnRH para controle do ciclo estral e ovulação em vacas de corte**. 2002, 62f. Dissertação de Mestrado Piracicaba, 2003.

OLIVEIRA, G.C.; Oliveira BMM, Arruda RP, Zaffalon FG, Nascimento J, Fernandes CB, Celeghini ECC. **Características espermáticas do sêmen equino congelado com diferentes crioprotetores**. In: Conferência Anual da Abraceq, 9, 2010, São Paulo, SP. Anais... São Paulo, SP: ABRAVEQ, 2010.v.29, p.304-305.

PAPA, F.O. et, al. **Manual de andrologia e manipulação de sêmen equino**. 2014.

PIMENTEL, CLÁUDIO ALVES. Revista Cultivar Bovinos: “**Manual para diagnóstico**” (1998).

SIMÕES, J.; POTES, J. **Aplicação da ecografia no diagnóstico de gestação no 25º dia por via transretal e no 35º dia por via transabdominal em caprinos de raça Serrana**. III Congresso Ibérico de Reprodução Animal, Porto, p. 545-547, 2001.

VEIGA, J.S. **Alguns aspectos da exploração do gado leiteiro.** Rev. Criadores 8:24-54,

VISHWANATH R. **Artificial insemination: the state of the art.** **Theriogenology**, v.59, p.571-584, 2003.