



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

**MARCILIO DE SOUSA MENDES**

**MANEJO E BIOTECNICAS APLICADAS A REPRODUÇÃO EM BOVINOS,  
CAPRINOS E SUÍNOS.**

**FORTALEZA**

**2014**

**MARCILIO DE SOUSA MENDES**

**MANEJO E BIOTECNICAS APLICADAS A REPRODUÇÃO EM BOVINOS,  
CAPRINOS E SUÍNOS.**

Relatório apresentado à Coordenação do Curso  
de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias  
da Universidade Federal do Ceará, como parte  
das exigências da disciplina Estágio Curricular  
Supervisionado.

Orientadora-Pedagógica: Prof. Dra. Ana  
Cláudia Nascimento Campos

**FORTALEZA**

**2014**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca de Ciências e Tecnologia

- 
- M492m      Mendes, Marcilio de Sousa.
- Manejo e biotécnicas aplicadas a reprodução em bovinos, caprinos e suínos / Marcilio de Sousa Mendes. – 2014.
- 57 f.: il., enc. ; 30 cm.
- Relatório (Graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Zootecnia, Curso de Zootecnia, Fortaleza, 2014.
- Orientação: Profa. Dra. Ana Cláudia Nascimento Campos.
- Coorientação: Prof. Dr. Luiz Euquerio Carvalho.
- Coorientação: Dr. Maurício Fraga van Tilburg.
1. Reprodução animal. 2. Biotecnologia. 3. Zootecnia. 4. Manejo. I. Título.

CDD 636.08

---


**MARCILIO DE SOUSA MENDES**

**MANEJO E BIOTECNICAS APLICADAS A REPRODUÇÃO EM BOVINOS,  
CAPRINOS E SUÍNOS.**

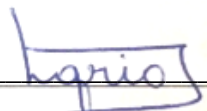
Relatório apresentado à Coordenação do Curso de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como parte das exigências da disciplina Estágio Curricular Supervisionado.

Aprovada em: 10/11/2014.

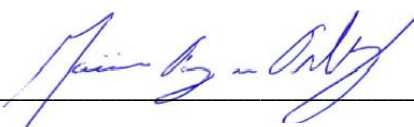
**BANCA EXAMINADORA**



Prof. Dra. Ana Cláudia Nascimento Campos  
Universidade Federal do Ceará (UFC)



Prof. Dr. Luiz Euquerio de Carvalho  
Universidade Federal do Ceará (UFC)



Dr. Maurício Fraga van Tilburg

Bolsista do Programa Nacional de Pós-Doutorado (PNPD/CAPES)

## AGRADECIMENTO

Primeiramente a **Deus**, por ter me acompanhado durante toda vida, me protegendo, me guiando e tornando possível todas as minhas lutas e realizações.

Aos meus pais **Moacir** e **Marli**, que nunca desistiram de mim, que sempre me deram total apoio, valores e que fizeram valer a pena cada sofrida gota de suor derramado para minha criação e minha educação. Tudo o que conquistei até hoje eu devo a eles.

Às minhas irmãs **Camila** e **Carine**, que apesar de discussões e mal entendidos, foram como duas escudeiras me defendendo e me protegendo de todos que me mal julgavam e que tentavam me prejudicar.

À **Universidade Federal do Ceará – UFC**, a qual me proporcionou o maior passo que um cidadão pode ter na vida, além da graduação conceituada, me proporcionou as melhores experiências da minha vida.

Aos **Mestres**, que me acompanharam durante toda graduação com ensino de excelência, orientação e que entre rígidas e ótimas críticas e oportunidades me fizeram crescer e me motivaram sempre a ser um grande profissional.

Aos meus colegas de turma e futuros colegas de profissão **Dorvalina Helena (Lina)**, **Marília Ribeiro**, **Tatianne Azevedo**, **Suellen de Rezende**, **Etho Robério**, **Monaliza Eva**, **Manuela Pelário**, **Mayara Lemo**, **Nathália Martins**, **Karlos Jhekson**, **Ana Clara**, **Ana Karina Barbosa**, às irmãs **Geovana Aguiar** e **Germana Aguiar**, aos quais devo meu sincero agradecimento, pois com eles eu acompanhei a grande jornada acadêmica, onde pudemos compartilhar de todos os momentos de dificuldade e realizações juntos, e se Deus quiser, compartilharemos de muitas outras lutas que virão daqui pra frente.

Aos amigos **Nathan Lobo**, **Vítor Bezerra**, **Leonardo Moreira**, **Dorvalina Helena (Lina)**, **Gleilson Marinho**, que sempre estiveram comigo nos piores e nos melhores momentos da minha vida, que me levantaram quando muitas vezes que cai, que me fizeram ver muitos lados da vida e me mostraram esperança e força de vontade quando eu fraquejava. Muito obrigado a todos vocês.

Ao meu companheiro e parceiro de muitas lutas **Éwerton Lima**, que me ajudou e esteve ao meu lado sempre, sem pedir nada em troca, que me ensinou a dádiva da paciência e que me fez perceber os verdadeiros valores que a vida nos oferece, como o amor e a confiança. Muito obrigado.

À Professora **Ana Cláudia Nascimento Campos**, pela excelente orientação, pela credibilidade e pela influência que tem sido para mim durante essa etapa final da minha graduação.

À Professora **Maria Socorro de Souza Carneiro**, por ter me proporcionado a honra de ser seu bolsista e que além de uma ótima orientadora, também me ajudou quando eu mais precisei, me aconselhando e me ajudando a trilhar meus passos na universidade.

Aos professores **Elzânia, Luiz Elquério, Sonia, Ednardo, Magno, Zizi** pelos conselhos, pela credibilidade e pelas grandes experiências vividas e que levarei comigo pra toda a vida.

À **Coordenação do curso de Zootecnia**, pelo auxílio, pelas orientações, pelos tramites e por sempre estarem a postos para resolver qualquer tipo de burocracia.

Ao professor **José Domingos Guimarães**, por ter me aceito como orientado durante meu estágio supervisionado e por me proporcionar viagens e trabalhos de campo extraordinários que me fizeram vivenciar a real experiência de um profissional em sua área de atuação.

À **Universidade Federal de Viçosa - UFV**, pela oportunidade de um estágio de ótima qualidade.

Ao Médico Veterinário **Tiago Silva Andrade**, pelo apoio e contribuição na etapa final do meu Trabalho de Conclusão de Curso.

À **Granja Xerez**, pela oportunidade de enriquecimento das minhas práticas na suinocultura e contribuição para meu estágio.

Às **Fazendas São Francisco do grupo CFM Agropecuária e Derribadinha** do grupo Unicafé S/A, pelo recebimento maravilhoso, pela grande oportunidade de estágio e pela experiência inesquecível de trabalho em campo.

Aos amigos **Taynan Kawamoto, Denise Okano, Lincoln Silva Amorim , Faider Alberto , Victor Gomez Leon, Carlos Thiago Oliveira, Letícia Fregulhia, Fernanda Luciano Cândido e Julio Dias** pelo acompanhamento, suporte, orientação e principalmente, pela contribuição que vocês tiveram tanto no meu estágio quanto na minha vida.

À **Dona Cely Lopes Salgado** e seu filho **Renan Lopes Santana** pelo acolhimento em Viçosa – MG. Agradeço por todo apoio, dica, conselho, afeto e amizade que me foram dados, sem falar da gatinha **Mel**, que me proporcionou momentos de alegria e descontração. Agradeço por ter feito parte dessa família linda e mineira.

Aos participantes da banca examinadora **Prof. Dr. Luiz Euquerio de Carvalho** e **Dr. Maurício Fraga van Tilburg** pelo tempo, pelas valiosas colaborações e sugestões.

E a todos os amigos de curso, que durante todos esses anos fizeram do Departamento de Zootecnia um lugar ótimo de se conviver, obrigado pelas tardes de estudo, pelas ajudas, brincadeiras, momentos de descontração, momentos de apoio, enfim, vocês são como uma grande família.

“A grandeza de uma nação pode ser julgada pelo modo que seus animais são tratados.”  
(Mahatma Gandhi).



## RESUMO

O relatório reúne informações sobre técnicas de manejo reprodutivo e biotécnicas acompanhadas no período de estágio supervisionado. Tais técnicas são realizadas para a melhoria na produtividade e lucratividade nas produções agropecuárias de grande escala. O procedimento foi dividido em três etapas, onde três espécies animais foram escolhidas para o acompanhamento. A primeira espécie escolhida foi a bovina, onde as atividades relacionadas a esta foram Exame Andrológico de tourinhos, realizado na fazenda São Francisco, pertencente ao grupo “Agropecuária CFM”, localizada no município de Magda em São José do Rio Preto – SP; Diagnóstico de Prenhez e Ultrassonografia em vacas e novilhas de corte, realizada na fazenda Derribadinha, pertencente ao grupo Unicafé Agrícola S/A, no município de Carlos Chagas – MG. A segunda parte do trabalho foi realizada com caprinos, onde acompanhei práticas de manejo reprodutivo com machos e fêmeas, os quais foram, respectivamente, coleta e congelamento de sêmen, sincronização de estro, inseminação artificial e diagnóstico de gestação, realizados no capril da Universidade Federal de Viçosa – UFV, na cidade de Viçosa – MG. A terceira e última parte do trabalho, foi realizada com suínos, primeiramente no setor de melhoramento genético em suínos do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, na cidade de Viçosa-MG, onde trabalhei com FIV; e na Granja Xerez localizada em Maranguape - CE, onde acompanhei a parte de manejo reprodutivo com machos e fêmeas (coleta e processamento de sêmen, diagnóstico de estro e inseminação artificial).

**Palavras-chave:** Manejo Reprodutivo. Biotecnologias. Produtividade.

## **ABSTRACT**

The report brings together information on reproductive management techniques and biotechnologies accompanied the period of supervised practice. Such techniques are performed to improve the productivity and profitability in agricultural large scale productions. The procedure was divided into three stages, where three species were chosen for monitoring. The first species chosen was bovine, where activities related to this soundness examination of bulls were held in São Francisco farm, belonging to the group “Agropecuária CFM”, located in the municipality of Magda in São José do Rio Preto - SP; Pregnancy and ultrasound diagnosis in cows and heifers held in Derribadinha farm belonging to group “Unicafé Agricultural S/A”, in the municipality of Carlos Chagas - MG. The second part of the work was carried out with goats, where reproductive management practices followed with males and females, which were, respectively, collecting and freezing semen, estrous synchronization, artificial insemination and pregnancy diagnosis, made in goat house of the Federal University of Viçosa - UFV, in Viçosa - MG. The third and final part of the work was carried out with pigs, first in the swine breeding industry in the Department of Animal Science, Federal University of Viçosa, in Viçosa-MG, where I worked with IVF; and in the Granja Xerez located in Maranguape - CE, which followed the part of reproductive management with males and females (collection and processing of semen, diagnosis of estrus and artificial insemination).

**Keywords:** Reproduction Management. Biotechnologies. Productivity.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

I.A.	Inseminação Artificial
I.A.T.F	Inseminação Artificial em Tempo Fixo
P.O.	Puro de Origem
CL	Corpo Lúteo
DC	Detecção de Cio
DG	Diagnóstico de Gestação
Sptz	Espermatozoides
P.E.	Perímetro Escrotal
PE	Referente ao dispositivo intravaginal contendo progesterone (pregn-4-eno-3,20-diona)
Prot.1	Protocolo 1
Prot.2	Protocolo 2
PIV	Produção <i>in vitro</i>
MIV	Maturação <i>in vitro</i>
FIV	Fertilização <i>in vitro</i>
CIV	Cultivo <i>in vitro</i>
SE	Sincronização de Estro
PBS	Phosphate Buffered Saline
PVA	Álcool Polivinílico
BTS	Beltsville Thawing Solution
NCSU <sub>23</sub>	North Caroline State University 23
TBMm	Tris Buffer Modified Media
PZM-5	Porcine Zygote Medium
BSA	Bovine Serum Albumin
eCG	Gonadotrofina Equina Coriônica

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Logomarca do grupo CFM Agropecuária.....	19
Figura 2A –	Cauda do epidídimo crescida.....	20
Figura 2B –	Testículos assimétricos.....	20
Figura 3 –	Análise da consistência testicular.....	21
Figura 4 –	Exposição Peniana.....	21
Figura 5 –	Coleta de sangue e sêmen realizadas simultaneamente.....	22
Figura 6 –	Coleta de Sêmen de tourinho por eletro ejaculação.....	22
Figura 7 –	Análise de volume e aspecto do sêmen coletado.....	22
Figura 8 –	Diagnóstico de gestação positivo – Ultrassonografia Transretal.....	25
Figura 9 –	Acompanhamento no procedimento de avaliação das novilhas – Ultrassonografia Transretal .....	26
Figura 10A –	Brasão UFV e logomarca do Departamento de Zootecnia da UFV.....	27
Figura 10B –	Câmara de Neubauer no momento da contagem espermática.....	28
Figura 10C –	Diluição do sêmen caprino.....	30
Figura 11 –	Preenchimento das palhetas por sucção.....	30
Figura 12 –	Vedação das palhetas com massinha colorida.....	30
Figura 13 –	Identificação das palhetas e separação por tratamento.....	31
Figura 14 –	Recipientes adaptados para o resfriamento progressivo do sêmen.....	31
Figura 15 –	Rampa para pré-congelamento do sêmen.....	32
Figura 16 –	Deposição das palhetas no nitrogênio líquido.....	32
Figura 17 –	Manipulação das palhetas no nitrogênio líquido e armazenamento das doses no botijão.....	33
Figura 18 –	Registro, separação e marcação das fêmeas para o (Prot.1).....	34
Figura 19 –	Dispositivo (P4) com aplicador, montagem e aplicação do dispositivo intravaginal .....	34
Figura 20 –	Fêmea com dispositivo intravaginal (P4) implantado.....	34
Figura 21 –	(DC positivo) fêmeas procuram o macho e aceitam a monta.....	36
Figura 22 –	Inseminação artificial (I.A.) (cabra).....	36
Figura 23 –	Probe utilizada na ultrassonografia transretal (DG positivo).....	37
Figura 24 –	Limpeza do prepúcio do reprodutor.....	44
Figura 25 –	Manequim de aço inoxidável e tapete antiderrapante.....	45

Figura 26 –	Coleta do primeiro ejaculado (fração pobre).....	45
Figura 27 –	Copo de coleta.....	45
Figura 28 –	Coleta de sêmen (mão enluvada).....	46
Figura 29 –	Copo de Becker contendo o ejaculado (fração rica).....	46
Figura 30 –	Diluyente em banho maria.....	48
Figura 31 –	Diluição do sêmen suíno.....	48
Figura 32 –	Embalagem e resfriamento do sêmen suíno.....	48
Figura 33 –	Passagem do macho para DC.....	49
Figura 34 –	Marcação e separação das fêmeas com (DC positivo) para I.A.....	50
Figura 35 –	Limpeza da vulva da porca.....	51
Figura 36 –	Inseminação (I.A.) (porca).....	51
Figura 37 –	Deposição do sêmen.....	51
Figura 38 –	Permanência do aplicador evitando refluxo de sêmen.....	51
Figura 39 –	Marcação das fêmeas inseminadas.....	51
Figura 40 –	Gaiolas individuais.....	52
Figura 41 –	Baias coletivas.....	52
Figura 42 –	Galpão climatizado com sistema de ventilação por aspersão.....	52

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVO.....</b>	<b>17</b>
<b>2.1</b>	<b>OBJETIVO GERAL.....</b>	<b>17</b>
<b>3</b>	<b>DESCRIÇÃO DO ESTÁGIO.....</b>	<b>18</b>
<b>3.1</b>	<b>BOVINOS.....</b>	<b>18</b>
<b>3.2</b>	<b>CAPRINOS.....</b>	<b>26</b>
<b>3.3</b>	<b>SUÍNOS.....</b>	<b>39</b>
<b>4</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>53</b>
<b>5</b>	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>54</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Atualmente, sabe-se que um dos principais setores da economia no Brasil é a Pecuária, que gradualmente vem crescendo e se desenvolvendo por meio da melhoria na capacitação profissional e das técnicas de manejo. Dentre estas, estão o manejo de crias, manejo de pastagem, manejo nutricional, manejo sanitário e o manejo reprodutivo.

O manejo reprodutivo se resume na aplicação de técnicas e procedimentos que possibilitem de forma direta e indireta à reprodução eficiente dos animais, tendo por base a sua relação com a natureza ou sua adaptação harmônica com o ambiente artificial, aos quais são submetidos por necessidades inerentes ao sistema produtivo (BONSMA, 1965; WATHES et al., 2007).

A partir do século XVII cresceu de forma ainda empírica, mas com aplicação primária de princípios zootécnicos, o entendimento sobre a relação do animal com o meio ambiente e o efeito desta relação sobre a reprodução (DOMINGUES, 1975). Conceitualmente, o manejo reprodutivo busca harmonizar a experiência do produtor com a experiência do técnico, sempre em profunda consonância com a realidade do ambiente, com o tipo do animal e com a disponibilidade de recursos naturais, financeiros e técnicos que possam ser disponibilizados no processo de criação, no sentido de programar a eficiência reprodutiva (MARQUES JR, 2012). Só foi possível o desenvolvimento de raças modernas, altamente produtivas, com a implementação de medidas de manejo reprodutivo que fizeram uso dos conhecimentos científicos progressivos da fisiologia, da genética, da ambiência, da nutrição e da patologia, aliados a técnicas paulatinamente desenvolvidas nos últimos séculos (VEIGA, 1974; LUCY, 2007).

As técnicas desenvolvidas e aplicadas ao manejo reprodutivo são denominadas como biotécnicas reprodutivas, que segundo Figueiredo (2008), são técnicas que servem como ferramentas importantes para compreensão da fisiologia reprodutiva feminina e masculina, multiplicação de animais geneticamente superiores, formação de bancos de germoplasma animal, reposição de espécies ameaçadas de extinção, controle populacional (métodos contraceptivos) e produção de órgãos humanos pela transgenia e possivelmente pela clonagem.

A bovinocultura brasileira passa por uma fase de reconhecimento da importância do uso de tecnologias no setor produtivo, principalmente no segmento de corte, com grande participação das raças zebuínas (*Bos taurus indicus*), como a raça Nelore, e também das raças

taurinas (*Bos taurus taurus*) de origem europeia e seus cruzamentos. A perspectiva de retorno financeiro por meio da eficiência nos sistemas de produção pode ser intensificada com o uso de eficientes técnicas de manejo e biotecnologias aplicadas à reprodução animal (TORRES-JÚNIOR, 2009). A adoção da estação de monta com uso de animais selecionados e a inseminação artificial são importantes ferramentas que auxiliam no melhoramento genético e no aumento da produtividade no setor (VISHWANATH, 2003). Usando os índices reprodutivos e produtivos como indicadores de desempenho do rebanho, é possível antecipar, calcular, organizar e melhorar os eventos ligados à reprodução do rebanho (FERREIRA, 1991; FARIA & CORSI, 1997). Assim, elevados índices de produção, associados à alta eficiência reprodutiva, devem ser metas que norteiam os técnicos e criadores a alcançarem maior produtividade e satisfatório custo-benefício na atividade. As biotecnologias aplicadas à reprodução animal, como inseminação artificial, associadas a um manejo adequado do rebanho, têm sido implementadas por técnicos e produtores, visando aumentar a qualidade e a quantidade de bezerros genética e fenotipicamente superiores (TORRES-JÚNIOR, 2009).

A caprinocultura leiteira no Brasil tem aumentado de forma bastante significativa sua participação no cenário agropecuário brasileiro, superando o constante desafio de conquistar e manter novos mercados para o leite de cabra e seus derivados (BORGES & BRESSLAU, 2002). De acordo com Cordeiro & Cordeiro (2009), 92% do rebanho caprino brasileiro concentra-se na região Nordeste, e é onde mais recentemente iniciou-se sistema organizado de aquisição, industrialização e distribuição de leite com os programas institucionais de governos estaduais. A caprinocultura leiteira configura-se como uma alternativa para a promoção de emprego e geração de renda no campo (HOLANDA JR et al., 2008). Conforme Gonçalves et al. (2008), no cenário agrícola mundial, é notória a evolução da caprinocultura leiteira. O sucesso dos sistemas de produção de caprinos leiteiros depende, dentre outros fatores, da taxa de reprodução do rebanho. Para se aumentar a eficiência reprodutiva de um rebanho é necessário o uso de práticas adequadas de manejo reprodutivo, integradas a programas de alimentação e de sanidade (SÉRIE APRISCO, 2003).

A suinocultura no Brasil atualmente é uma atividade exercida, em sua maioria, de forma integrada à indústria, sendo os produtores independentes a parcela menor representando menos de 25% da produção total. O rebanho brasileiro de suínos atingiu a marca de 38,9 milhões de cabeças em 2011, sendo o quarto maior player mundial. Na região sul do Brasil a suinocultura é uma das atividades mais importantes, representa quase 50% de toda a produção nacional. Destaques para Minas Gerais e Rio Grande do Sul que tiveram um incremento do



rebanho próximo a 30% nos últimos seis anos (GERVÁSIO, E.W., 2013). Porém, a taxa de desfrute no Brasil ainda é baixa. Os fatores apontados como causas desse baixo desfrute são a opção pela rusticidade com animais de baixo valor genético; a elevada idade de abate, em torno de 18 meses; o baixo índice de partos da fêmea com menos de dois partos/ano; e leitegadas pequenas. A base de toda a exploração agropecuária é o material genético, razão pela qual se deve dar toda a atenção à sua escolha e aquisição. A garantia de uma boa produtividade tem como ponto de partida os reprodutores, os quais devem responder positivamente às condições ambientais que lhes serão impostas. O manejo da cobrição, incluindo uma eficiente detecção de cio e os cuidados durante a gestação e ao parto, tem influência decisiva na produção de leitões. O manejo reprodutivo engloba um conjunto de medidas aplicadas na área de reprodução, nutrição e alimentação, sanidade e higiene, e ambiente, sendo o principal ponto de atenção do suinocultor, pois não bastam bons padrões nutricionais e boas normas de manejo, se os índices reprodutivos não forem também elevados. (<http://www.cpt.com.br/cursos-criacaodesuinos/artigos/manejo-reprodutivo-criacao-suinos-fator-decisivo-obtencao-maiores-indices> acessado em 03/09/2014).

## **2. OBJETIVO GERAL**

Objetivou-se por meio deste relatório descrever as atividades desenvolvidas durante a disciplina de Estágio Supervisionado realizadas em Viçosa-MG, São José do Rio Preto-SP, Carlos Chagas-MG e em Maranguape-CE, a fim de aprimorar os conhecimentos práticos e teóricos adquiridos durante a graduação referente às áreas de Reprodução Animal e Biotécnicas aplicados na Bovinocultura de corte, Caprinocultura de Leite e na Suinocultura.

### **2.1. ESPECÍFICOS**

Participar ativamente dos trabalhos realizados a campo relacionados à biotécnicas da reprodução e manejo reprodutivos de machos e fêmeas das espécies bovina, caprina e suína, obtendo experiência às técnicas empregadas nestas espécies.

### 3 DESCRIÇÃO DO ESTÁGIO

#### 3.1. BOVINOS

##### 3.1.1. FAZENDA CFM AGROPECUÁRIA

De início, o trabalho foi realizado na Fazenda São Francisco, pertencente ao Grupo AGROPECUÁRIA CFM (Figura 1), localizada no município de Magda em São José do Rio Preto – SP, que é pioneira na produção de Tourinhos Nelore CEIP (Certificado Especial de Identificação e Produção), com seleção a pasto e focados em características econômicas como ganho de peso, precocidade sexual e de carcaça.

Figura 1: Logomarca do grupo CFM Agropecuária.



Fonte: arquivos do Google.

A metodologia empregada foi o exame andrológico dos tourinhos Nelore que consistia em avaliar os animais e levantar dados sobre o estereótipo dos machos, análise de sêmen e sangue com finalidade de registrar o laudo de cada animal e garantir o controle da qualidade do sistema de produção de touros para corte e de reprodutores com grande capacidade genética.

O trabalho teve duração de cinco dias, onde a cada dia eram separados, de forma aleatória, 50 machos Nelore (totalizando 250 animais) entre 26 e 28 meses para o exame andrológico. Após cada animal ser imobilizado, foram realizados os seguintes procedimentos:

### 3.1.1.1 Avaliação Clínico-Andrológica dos Tourinhos

Esta primeira etapa consistiu em:

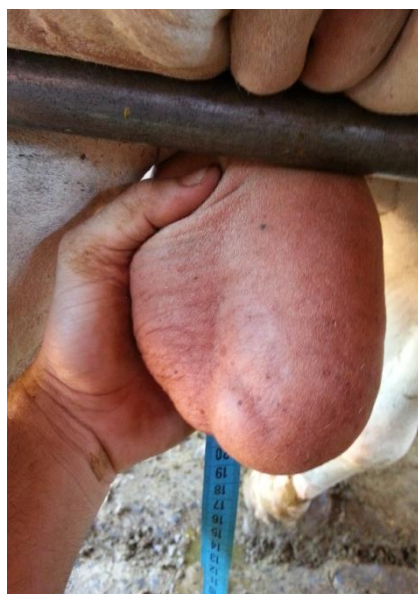
- Mensuração do perímetro escrotal (P.E.) com fita métrica (em média 18,5 cm), do comprimento do testículo incluindo cabeça do epidídimo (em média de 12 a 16 cm), e da largura (em média de 6 a 8 cm) (BHOSREKAR, 1990);
- Observação de problemas como criptorquidismo, inchaço da cauda do epidídimo (Figura 2A), testículos assimétricos (Figura 2B);
- Classificação da consistência testicular (Figura 3), que variava de 1 a 5 (sendo 1: tenso; 2: tenso elástico; 3: ligeiramente flácido; 4: flácido; 5: muito flácido), onde as classificações 3, 4 e 5 indicam possível degeneração testicular;
- Exposição do pênis (Figura 4), onde era observado se o órgão apresentava alguma anomalia e era feita a classificação de 0 a 3 (sendo 0: não observado, 1: aderido; 2: parcialmente aderido; 3: normal);
- Mensuração e avaliação das glândulas vesiculares (diagnóstico de vesiculite).

Figura 2A: Cauda do epidídimo crescida.



Fonte :próprio autor.

Figura 2B: Testículos assimétricos.



Fonte: próprio autor.

Figura 3: Análise da consistência testicular.



Fonte: próprio autor.

Figura 4: Exposição peniana.



Fonte: próprio autor.

### 3.1.1.1 Coleta e Avaliação do Sêmen

Esta segunda etapa do procedimento consistiu em:

- Coleta de amostras de sangue de cada animal para análise sorológica (Figura 5) (Brucelose);
- A coleta de sêmen (Figura 6) foi realizada com eletroejaculador, visto que animais zebuínos são indóceis e, portanto, não treinados em vagina artificial;
- Com o estímulo, a parte rica do sêmen foi coletada utilizando os seguintes materiais: um cone plástico e um tubo de ensaio com uma capa protetora, para não deixar que a luz incida sobre o sêmen;
- Após a coleta, foram realizados dois procedimentos: o primeiro foi a coleta de uma amostra de sêmen para a concentração espermática, que foi armazenada em um eppendorf contendo formaldeído e solução salina (solução salina formolizada a 0,1%) e identificadas com as numerações de cada macho para que posteriormente pudessem ser utilizadas também no espermiograma de cada animal. O segundo foi coletar amostras de sêmen fresco para avaliação qualitativa, onde foi avaliado aspecto e volume, (Figura 7), turbilhonamento, motilidade, e vigor (FONSECA et al., 1992).



Figura 5: Coleta de sangue e sêmen realizadas simultaneamente.



Fonte: próprio autor.

Figura 6: Coleta de Sêmen de tourinho por eletro ejaculação.



Fonte: próprio autor.

Figura 7: Análise de volume e aspecto do sêmen coletado.



Fonte: próprio autor

### 3.1.1.3 Avaliação Clínica e Laudo.

Esta última etapa do procedimento consistiu:

- Na análise sorológica das amostras de sangue de cada animal (Brucelose);
- No espermograma, onde as amostras diluídas em solução formol-salina foram analisadas quanto a concentração espermática ( $\times 10^9$  spz/ml);
- Na morfologia espermática, onde foram contabilizados os espermatozoides com alterações morfológicas, tal como espermatozoide decapitado, cauda dupla, cabeça arredondada, macro e microcefálico, cauda dobrada, cauda curta, entre outros;
- Na transferência dos dados da biometria genital e qualidade seminal, coletados em campo e registrados nas fichas, para o Access;
- E no Certificado Andrológico (Laudo), documento finalizado com todos os dados coletados e analisados, diagnosticando a situação de cada animal, concluindo se o animal estava apto para monta natural, coleta para congelamento e comercialização de sêmen ou inapto - descarte por doença ou defeito.

### 3.1.2 FAZENDA DERRIBADINHA

A segunda parte do estágio supervisionado com bovinos foi realizada na Fazenda Derribadinha com sede em Carlos Chagas, pertencente ao Grupo UNICAFÉ AGRÍCOLA S/A. A fazenda está localizada no município de Carlos Chagas – MG, e tem como principal foco a produção de matrizes Nelore P.O., Nelore comercial e Montana para o mercado de gado de corte.

A metodologia empregada foi a avaliação ginecológica de fêmeas Nelore P.O., Nelore comercial e Montana, o qual consistiu no exame ginecológico, no diagnóstico de gestação e no protocolo de IATF. Também foi realizada avaliação de novilhas.

O trabalho teve duração de 2 dias, e foram examinadas fêmeas com 28 a 45 dias de gestação, separadas em 5 núcleos (currais). Após serem separadas aleatoriamente e imobilizadas foram realizados os seguintes procedimentos:

#### **3.1.2.1 Avaliação das Condições Físicas e da Genitália das Fêmeas**

O primeiro parâmetro avaliado foi a condição física das fêmeas, por meio do escore de condição corporal. Caso, os escores estivessem baixos, os animais eram separados e recebiam a dieta adequada. Se houvesse algum tipo de problema, como sangramento, corrimento infeccioso na vagina ou odores anormais, alteração no comportamento, textura e coloração da vulva anormal, estas fêmeas eram separadas e, dependendo da gravidade do problema, eram tratadas e repostas no rebanho ou descartadas.

Após esta primeira etapa, o aparelho genital da fêmea era examinado pelo procedimento de toque retal (PIMENTEL, 1998). As características clínicas observadas nos diferentes estágios de gestação foram as seguintes: 28 dias: geralmente só é viável em novilhas, caracteriza-se por apresentar um espessamento da vesícula embrionária no corno uterino gestante; 32 dias: realiza-se o beliscamento (deslizamento do corio-alantóide sobre a parede do útero) demonstrando a presença de paredes duplas; incluiu a caracterização das estruturas ovarianas.

#### **3.1.2.2 Diagnóstico de Gestação**

O diagnóstico de gestação foi realizado através de Ultrassonografia transretal, onde as fêmeas cujo DG foi positivo (Figura 8) foram separadas e alocadas em baias de gestação coletivas e as fêmeas com DG negativo foram separadas para o protocolo de IATF. O diagnóstico preciso e precoce da prenhez nos rebanhos é essencial para a manutenção da eficiência reprodutiva. Ele é necessário para a identificação precoce de problemas de fertilidade tanto em termos individuais quanto de rebanho (COMPÊNDIO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 2007).

As fêmeas que tiveram DG negativo, porém, apresentavam CL, recebiam uma dose de 2 ml de prostaglandina (cloprostenol sódico 0,530 mg), para induzir a regressão do



corpo lúteo, e finalizar a fase luteínica. Após isso, inicia-se uma nova fase folicular, e o animal apresentará estro e ovulará. A fertilidade no cio induzido é semelhante à do estro natural (BARUSELLI, 2007).

Figura 8: Diagnóstico de gestação positivo – Ultrassonografia Transretal.



Fonte: próprio autor.

### 3.1.2.3 Avaliação de Novilhas

Este procedimento foi realizado para detectar novilhas que pudessem ter sido cobertas em campo e para analisar o aparelho reprodutivo destas fêmeas como objetivo principal de tomar decisões futuras sobre economia e manejo reprodutivo do rebanho.

Os procedimentos empregados no rebanho de novilhas foram o mesmo que das fêmeas reprodutoras, porém a ultrassonografia teve como principal objetivo a avaliação das condições do aparelho reprodutivo das nulíparas (Figura 9).

Figura 9: Acompanhamento no procedimento de avaliação das novilhas – Ultrassonografia Transretal.



Fonte: próprio autor.

## 3.2 CAPRINOS

### 3.2.1 CAPRIL – UFV

A segunda fase do estágio supervisionado foi realizada no Setor de Caprinocultura Leiteira do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV) — Viçosa – MG (Figura 10A).

Durante duas semanas, acompanhei os procedimentos de coleta e congelamento de sêmen em machos, sincronização de estro, I.A e diagnóstico de gestação em fêmeas das raças Saanen e Pardo Alpina.

Figura 10A: Braço UFV e logomarca do Departamento de Zootecnia da UFV.



Fonte : arquivos do Google

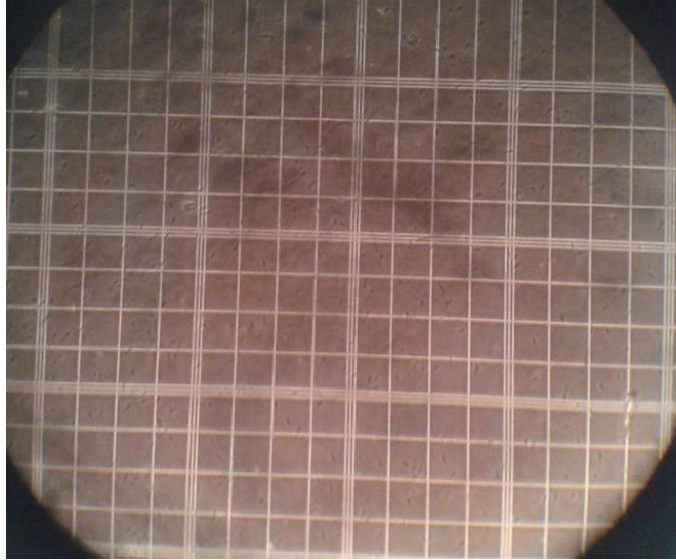
#### 3.2.1.1 Coleta, Avaliação e Congelamento do Sêmen.

A criopreservação foi feita com o sêmen de um reprodutor da raça Pardo Alpina. Para o procedimento de coleta de sêmen foi utilizada uma vagina artificial e uma fêmea como manequim. Após ser coletado, o sêmen (em um tubo de ensaio) foi posto em banho maria para ser analisado e congelado, caso aprovado. O sêmen foi avaliado quanto ao aspecto, volume, turbilhonamento, motilidade, vigor e concentração espermática. Esta última foi determinada em câmara de Neubauer (Figura 10B) e o seguinte procedimento foi seguido:

Uma amostra de 10 µl de sêmen fresco foi diluída em 2000 µl de água. A adição dessa solução serve para matar (imobilizar) os espermatozoides e facilitar na contagem.

$$\frac{10}{2000} = 1:200 \text{ sptz/água}$$

Figura 10B: Câmara de Neubauer no momento da contagem espermática.



Fonte: próprio autor.

A fórmula para o valor da concentração foi a seguinte:

$$\frac{N}{\frac{1}{10} \times \frac{1}{5} \times \frac{1}{200}}$$

Onde:

N = Número total de espermatozoides contados.

$\frac{1}{10}$  = Altura entre a lâmina e a Câmara de Neubauer (valor fixo).

$\frac{1}{5}$  = Número de quadrados contados.

$\frac{1}{200}$  = Relativo à diluição.

Que simplificando fica:

$$\frac{N}{\frac{1}{10.000}} = \boxed{N \times 10.000}$$

Após a contagem e a aplicação da fórmula para diluição, o resultado da concentração foi de  $200 \times 10^6$  spz/ml. O sêmen coletado foi dividido para futuros 4 tratamentos, onde para cada tratamento foram separadas 6 palhetas de 0,25ml cada, logo, foram feitos os cálculos para a quantidade da dosagem de espermatozoides e diluente total para cada palheta.

O cálculo do valor total de espermatozoides necessário para cada tratamento foi o seguinte:

Multiplica-se o valor da contagem pela capacidade de cada palheta, logo:

$$(200 \times 10^6)_{(\text{sptz/ml})} \times 0,25\text{ml}_{(\text{por palheta})} = \mathbf{50 \times 10^6} \text{ sptz por palheta.}$$

Para saber a quantidade de spz total por tratamento, foi feito o seguinte cálculo:

$$6_{(\text{palhetas})} \times (50 \times 10^6)_{(\text{sptz por palheta})} = \mathbf{300 \times 10^6} \text{ sptz total por tratamento}$$

Para saber a quantidade total da dosagem por cada tratamento, foram feitos os seguintes cálculos:

Em média, para cada (ml) de sêmen, a quantidade de spz é de  $2,82 \times 10^9$ , logo:

$$2,82 \times 10^9_{(\text{média})} \text{ ----- } 1\text{ml}$$

$$0,3 \times 10^9_{(\text{valor no lab.})} \text{ ----- } X$$

$$X = \frac{(0,3 \times 10^9) \times 1}{2,82 \times 10^9}$$

$X = \mathbf{0,1064\text{ml}}$ , que transformando para microlitro fica  $\mathbf{106\mu\text{l}}$ .

Para saber o valor total da solução para cada tratamento fez-se:

$$6_{(\text{palhetas})} \times 0,25\text{ml}_{(\text{por palheta})} = \mathbf{1,5\text{ml}} \text{ ou } \mathbf{1.500\mu\text{l}} \text{ (valor total)}$$

logo, o total de diluente para 1.500μl:

$$1.500\mu\text{l} - 106\mu\text{l} = \mathbf{1.394\mu\text{l}} \text{ de diluente.}$$

Após o calculo da quantidade total por tratamento, cada dose de 0,106 ml de esperma foi colocada em um eppendorf para que depois fosse despejado, vagarosamente, o diluente (Botu-bov<sup>®</sup>)(Figura 10C).

Figura 10C: Diluição do sêmen caprino.



Fonte: próprio autor.

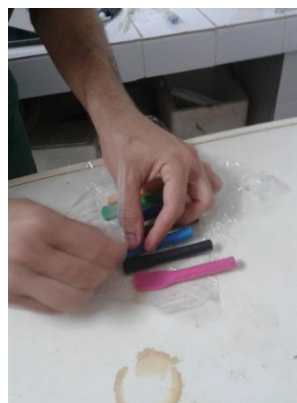
Após a diluição, o sêmen foi novamente analisado e colocado nas palhetas por sucção (Figura 11). Cada conjunto de palheta (6 palhetas por tratamento) foi vedado com massinha de modelar de cores distintas (Figura 12) (a massinha foi escolhida para vedação pois era o material que mais resistia à criogenização) e identificadas quanto a numeração do reprodutor e o tratamento (Figura 13).

Figura 11: Preenchimento das palhetas por sucção.



Fonte: próprio autor.

Figura 12: Vedação das palhetas com massinha colorida.



Fonte: próprio autor.

Figura 13: Identificação das palhetas e separação por tratamento.



Fonte: próprio autor.

### 3.2.1.2 Resfriamento Progressivo das Palhetas

O resfriamento foi realizado a  $+5^{\circ}\text{C}/1\text{h}$  em um congelador convencional. Foram utilizados quatro recipientes adaptados para este procedimento. Cada recipiente era feito com uma mamadeira que continha álcool e um tubo de ensaio acoplado. Estes recipientes evitavam a queda brusca de temperatura das palhetas (Figura 14). O álcool é fundamental para o resfriamento progressivo, pois seu ponto de congelamento é maior que o da água, fazendo com que o resfriamento inicial das doses de sêmen seja lento, evitando choque térmico aos espermatozoides. A gema de ovo, presente no diluente, protege a membrana plasmática da célula espermática, restaurando fosfolipídios perdidos durante o choque térmico oriundo da mudança de temperatura que ocorre durante o resfriamento do sêmen (HAMMERSTEDT et al., 1990).

Figura 14: Recipientes adaptados para o resfriamento progressivo do sêmen.



Fonte: próprio autor.



### 3.2.1.3 Congelamento Progressivo das Palhetas

A criopreservação mantém a vida fértil do sêmen por um período indeterminado quando conservado a temperatura de  $-196^{\circ}\text{C}$  em nitrogênio líquido. Entretanto uma grande proporção de espermatozoides não consegue sobreviver ao processo de congelação e descongelação (NOAKES et al., 2001).

Este procedimento, assim como o anterior, foi realizado de forma progressiva, pois evita a perda das dosagens pela diminuição drástica da temperatura. Após o resfriamento progressivo, as palhetas foram transportadas para uma rampa adaptada (Figura 15), que consistia em uma grade de aço inoxidável, onde as palhetas ficavam, com uma base de isopor, a qual mantinha as doses flutuando cerca de 5 cm do nitrogênio líquido.

Para o congelamento final das doses, foi utilizada uma caixa de isopor onde foi despejada uma quantia de nitrogênio líquido. Durante um período de 15 minutos, a rampa com as palhetas flutuou no nitrogênio líquido para promover um pré-congelamento das dosagens, que após esse período foram introduzidas no nitrogênio líquido (Figura 16) e ainda imersas, foram postas, de acordo com o tratamento nas raques e armazenadas no botijão de criogenia a  $-196^{\circ}\text{C}$  (Figura 17).

Figura 15: Rampa para pré-congelamento do sêmen.



Fonte: próprio autor.

Figura 16: Deposição das palhetas no nitrogênio líquido.



Fonte: próprio autor.



Figura 17: Manipulação das palhetas no nitrogênio líquido e armazenamento das doses no botijão.



Fonte: próprio autor.

#### 3.2.1.4 Manejo Reprodutivo e Biotécnicas com Fêmeas

Durante duas semanas foram acompanhados os procedimentos de sincronização de estro (SE), detecção do cio (DC), inseminação artificial (IA) e diagnóstico de gestação (DG) de cabras leiteiras Saanen e Pardo Alpina. Estes procedimentos fizeram parte de um trabalho de mestrado que estava na fase inicial do protocolo com as fêmeas.

#### 3.2.1.5 Protocolos

##### **Dia 12/03/14:**

No primeiro dia foram separadas, de forma aleatória, 30 cabras das raças Saanen e Pardo Alpina, que não estivessem prenhes, para o primeiro protocolo (Prot.1). Após serem separadas, registradas e marcadas (Figura 18), as fêmeas receberam um dispositivo intravaginal contendo progesterona P4 (pregn-4-eno-3, 20-diona) (Figura 19) e (Figura 20). Este procedimento serve para interromper o eixo hipotalâmico hipofisário gonadal, causando a paralisação do processo de foliculogênese nos ovários.

Figura 18: Registro, separação e marcação das fêmeas para o (Prot.1).



Fonte: próprio autor.

Figura 19: Dispositivo contendo P4 com aplicador, montagem e aplicação do dispositivo intravaginal.



Fonte: próprio autor.

Figura 20: Fêmea com dispositivo intravaginal P4 implantado.



Fonte: próprio autor.

**Dia 17/03/14:**

Cinco dias após a implantação dos dispositivos, aplicou-se por intramuscular 300UI (1,5ml) de gonadotrofina coriônica equina (eCG) e 0,5ml de D-cloprostenol D7 (Prostaglandina) nas fêmeas que receberam os dispositivos no Prot.1. A gonadotrofina coriônica equina (eCG) apresenta atividade semelhante à do hormônio folículo estimulante (80%), mas também alguma atividade de hormônio luteizante (20%) (BARRET et al., 2004). Este procedimento visa diminuir o intervalo estro-ovulação (CLINE et al., 2001).

**Dia 19/03/14:**

A retirada dos dispositivos de todas as fêmeas do Prot.1 foi feita 48 horas após o procedimento com os hormônios (sete dias após a introdução), este procedimento ocorreu pela manhã. No mesmo dia, mais 30 fêmeas foram separadas aleatoriamente e implantadas com um dispositivo intravaginal cada, contendo progesterona (P4), estas fêmeas faziam parte do segundo protocolo Prot.2. No período da tarde, foi feita a detecção do cio (DC), onde uma pessoa passou com o rufião nas baias em que se encontravam as fêmeas do Prot.1, as quais ao terem o cio confirmado, foram marcadas e separadas das demais.

**Dia 20/03/14:**

Na manhã seguinte, intervalo de 12h, foi feita a monta natural das fêmeas do Prot.1 que apresentaram cio no dia anterior, uma nova DC das fêmeas do Prot.1, que foram marcadas e separadas. No período da tarde foi realizada a coleta de sêmen. Para isso utilizaram dois machos, um da raça Saanen e um da raça Pardo Alpina. O sêmen coletado foi diluído e utilizado na inseminação artificial I.A. das fêmeas do Prot.1 separadas pela manhã (12h após DC).

**Dia 21/03/14:**

Nesta manhã foram feitos os procedimentos de DC, separação das fêmeas do Prot.1 que apresentaram cio (Figura 21). Pela tarde foi realizado o procedimento de I.A. (Figura 22) com sêmen congelado-descongelado. Para isto, foram utilizadas as fêmeas do Prot.1 com intervalo de 24 horas após DC. A aplicação do sêmen congelado-descongelado 12 a 24 horas após a detecção do estro proporciona melhores resultados de fertilidade do que as I.A. realizadas entre 0 e 12 horas (NEVES et al., 1986).



Figura 21: (DC positivo) fêmeas procuram o macho e aceitam a monta.



Fonte: próprio autor.

Figura 22: Inseminação artificial (I.A.) (cabra).



Fonte: próprio autor.

#### **Dia 24/03/14:**

Aplicação de 300UI de eCG (1,5ml) e 0,5ml de D-cloprostenol D7 (Prostaglandina) nas fêmeas que receberam os dispositivos no Prot.2.

#### **Dia 26/03/14:**

A retirada dos dispositivos de todas as fêmeas do Prot.2 foi feita 48 horas após o procedimento com os hormônios (sete dias após a introdução), este procedimento ocorreu pela manhã. Durante a tarde, as fêmeas do protocolo anterior ao primeiro protocolo foram

separadas para o procedimento de diagnóstico de gestação (DG). Estas fêmeas estavam no terço inicial da gestação, entre 35 e 50 dias após serem cobertas/inseminadas. O DG foi feito através de ultrassonografia em tempo real, via transretal (Figura 23). Este método é mais seguro (não invasivo) e rápida na determinação precoce de gestação na cabra (SIMÕES & POTES, 2001), mesmo quando comparada com outros métodos (GONZÁLEZ et al., 2004).

Figura 23: Probe utilizada na ultrassonografia transretal (DG positivo).



Fonte: próprio autor.

Através da ultrassonografia foi possível identificar se a fêmea estava prenhe ou não (DG+ ou DG-) e identificar se estas apresentavam algum tipo de irregularidade, como fêmeas com hidrometra, que apresentam um acúmulo de fluidos no útero que simula a gestação, mas não se encontra nem o feto, nem tecidos placentários. Os níveis de progesterona permanecem elevados. A hidrometra pode ser diagnosticada por ultrassonografia e é mais comum na cabra do que na ovelha (HAFEZ & HAFEZ, 2004).

Caso o DG fosse positivo, as fêmeas eram separadas em baias coletivas e registradas com a data de previsão de parição. Caso o DG fosse negativo e não apresentasse nenhuma anormalidade, as fêmeas eram marcadas e separadas para um novo protocolo, sendo que se as fêmeas vazias que receberam os hormônios a mais de dois meses entrariam no

próximo protocolo e as fêmeas vazias que receberam os hormônios a menos de dois meses entrariam em um protocolo mais tardio.

As fêmeas descartadas foram as que apresentaram algum tipo de problema no sistema reprodutivo interno (hidrometra, piometra ou cisto), as que tiveram maior repetição de inseminação e as mais velhas.

### 3.3 SUÍNOS

A etapa final do estágio foi relacionada manejo reprodutivo e biotécnicas empregadas na suinocultura, onde este foi dividido em duas fases. A primeira ocorreu na Granja de Melhoramento Genético de Suínos da Universidade Federal de Viçosa e a segunda ocorreu na Granja Xerez – sede Maranguape.

#### 3.3.1 GRANJA DE MELHORAMENTO GENÉTICO DE SUÍNOS – UFV

A Granja de Melhoramento Genético de Suínos faz parte do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV) em Viçosa-MG.

O procedimento acompanhado nesta foi a Produção *in vitro* (PIV), uma biotecnologia em que todos os processos fisiológicos de maturação folicular, fecundação e desenvolvimento embrionário são obtidos em laboratório (*in vitro*) (LONG et al., 1999). Define-se como a união ou co-cultivo de espermatozoides capacitados e ovócitos maduros de forma que a penetração espermática tenha lugar fora do organismo materno (KOO et al., 2005).

Essa técnica é utilizada para estudos relacionados à maturação de ovócitos, sistemas de capacitação de espermatozoides, fecundação, função espermática, mecanismos envolvidos na interação entre gametas e o estudo dos sinais que intervêm no processo de desenvolvimento e diferenciação do embrião. Todos esses aspectos de grande importância, tanto nas espécies animais como na humana (COY & ROMAR, 2002; ALMIÑANA et al., 2005).

Na suinocultura, esta biotécnica é aplicada com o intuito de acelerar o melhoramento genético, disseminando o material genético a ser produzido em larga escala, o que proporciona maior disponibilidade de um grande número de embriões para estudos de xenotransplante, transgênese e clonagem.

### 3.3.2 ASPIRAÇÃO FOLICULAR

Após o abate de porcas pré-púberes, os ovários foram coletados e submersos em solução salina adicionada antibiótico (gentamicina) para o transporte até o laboratório. Os folículos foram aspirados com o auxílio de seringas de 10 ml e agulhas de 18-gauge. Para a aspiração, cada folículo deveria ter em média de três a oito milímetros, pois os oócitos estão mais aptos à maturação.

### 3.3.3 LAVAGEM E SELEÇÃO DOS OÓCITOS

Os oócitos aspirados passaram por um primeiro procedimento de lavagem. Em uma Placa de Petri, foram postas gotas da solução, contendo tampão fosfato-salino (PBS), álcool polivinílico (PVA) e Fenol Red para a lavagem e seleção dos oócitos. Após o fluido folicular ser drenado, os sedimentos foram lavados cinco vezes, onde a cada lavagem era feita a classificação e seleção dos oócitos. A classificação dos oócitos pode ser realizada em uma escala de 1 a 4, sendo: qualidade 1 - cumulus compacto presente, contendo mais de três camadas de células. Ooplasma com granulações finas e homogêneas, preenchendo o interior da zona pelúcida e de coloração marrom; qualidade 2 - Cumulus compacto parcialmente presente em volta do oócito ou rodeando completamente o oócito, com menos de três camadas celulares. Ooplasma com granulações distribuídas heterogeneamente, podendo estar mais concentradas no centro e mais claras na periferia ou condensadas em um só local aparentando uma mancha escura. O ooplasma preenche o espaço do interior da zona pelúcida; qualidade 3 - cumulus presente, mas expandido. Ooplasma contraído com espaço entre a membrana celular e a zona pelúcida, preenchendo irregularmente o espaço perivitelino; qualidade 4 - oócito sem cumulus, também conhecido como oócito desnudo (GONÇALVES et al., 2008).

### 3.3.4 MATURAÇÃO *in vitro* (MIV)

Após serem todos selecionados, os oócitos foram lavados três vezes no meio de maturação (North Caroline State University 23 – NCSU<sub>23</sub>). Para isto, utilizou uma placa



escavada de cinco poços, os quais continham o meio de maturação NCSU<sub>23</sub>. Delicadamente, os oócitos foram lavados em três poços e separados em dois grupos, os quais foram postos para maturar nos dois últimos poços com uma camada de óleo mineral sobreposta (a camada de óleo serve para proteção e controle da troca de gases dentro da estufa). Em seguida, a placa, com a tampa semi-aberta, foi posta numa estufa com atmosfera controlada, onde estes oócitos receberam as condições ideais para a maturação. A Maturação *in vitro* (MIV) dura cerca de 40 a 44h.

### 3.3.5 PREPARAÇÃO DO SÊMEN- Capacitação

Os espermatozoides dos mamíferos, após a ejaculação, não são capazes de fecundar os oócitos, mesmo apresentando motilidade e aparente normalidade morfológica, adquirindo esta capacidade no trato genital feminino em um processo tempo dependente denominado capacitação espermática (PÉREZ et al., 1996; PEREIRA et al., 2000). A capacitação espermática está relacionada a mudanças fisiológicas e bioquímicas da membrana plasmática dos espermatozoides, facilitando a ativação das funções acrossomais, as quais são responsáveis pela penetração dos espermatozoides na zona pelúcida e, conseqüentemente, a fecundação do oócito. Entre os processos envolvidos podem-se verificar modificações como da fluidez da membrana, do fluxo de íons, entre outros (ROLDAN & GOMENDIO, 1992; GORDON, 1994; PÉREZ et al., 1996).

Antes do procedimento de FIV, ocorre a lavagem e a capacitação do sêmen. Este procedimento serviu para preparar os sptz para o momento da fertilização. O procedimento consistiu nas seguintes etapas:

- A dose de sêmen resfriado foi posto em banho maria;
- 4 ml de uma solução contendo phosphate buffered saline (PBS), bovine serum albumin (BSA) e antibiótico (Penicilina e Streptomicina) foi posta em um Tubo Falcon<sup>®</sup> de 15 ml, onde uma alíquota de sêmen foi posta, delicadamente, sobre a solução. Apesar de ser um procedimento de “lavagem”, este não separa os espermatozoides mortos e vivos;
- Em seguida ocorreu uma primeira centrifugação, fazendo com que os sptz percorressem pela solução, do topo do Tubo Falcon<sup>®</sup> ao fundo do mesmo, formando uma camada concentrada de espermatozoides (pellet);

- Tirou-se a solução (PBS+BSA+antibiótico), deixando apenas o pellet no fundo do tubo. Após este processo, mais 4 ml de uma nova solução (PBS+BSA+antibiótico) foi posta e misturada, delicadamente, com este sêmen e uma nova centrifugação foi feita. Este procedimento serve para garantir uma boa lavagem deste sêmen, retirando quaisquer tipos de resíduos como diluente, entre outros.
- Ao fim da terceira centrifugação, os espermatozoides desse pellet foram resuspendidos em solução com tris buffer modified media (TBMm) e Cafeína, onde delicadamente foram misturados neste meio com o auxílio da pipeta. A cafeína atua como agente capacitante.

### 3.3.6 FERTILIZAÇÃO *in vitro* (FIV)

A Fertilização *in vitro* (FIV) convencional é o procedimento onde os espermatozoides são colocados juntos aos oócitos em um ambiente (artificial) que simula o ambiente natural da fertilização, as tubas uterinas. Neste procedimento ocorre fertilização espontânea.

Após a maturação (cerca de 44 horas após a MIV), a placa de cinco poços contendo os oócitos amadurecidos foi retirada da estufa. Neste ponto ocorreu a desnudação das células do cumulus por vorterização, onde estas células foram separadas dos oócitos maturados. Este procedimento facilita a fecundação pelos espermatozoides. Em seguida, em outra placa cavada de cinco poços, os oócitos foram lavados e selecionados em solução de TBMm com Cafeína, os quais foram divididos em dois grupos de 40 a 50 oócitos por poço contendo TBMm, cafeína e uma camada de óleo mineral.

Após a capacitação, os espermatozoides foram postos nos dois poços contendo os oócitos amadurecidos e a placa de FIV foi posta na estufa, onde a fertilização ocorreria de forma espontânea.

### 3.3.7 CULTURA *in vitro* (CIV)

Após seis horas da fertilização, os embriões foram transferidos para o meio Porcine Zygote Medium (PZM – 5) e acondicionados em estufa a 39°C numa atmosfera úmida com 5% CO<sub>2</sub> durante sete dias. Os procedimentos de CIV adiante não foram acompanhados durante o estágio supervisionado.

### 3.3.8 GRANJA XEREZ

Esta última etapa do trabalho ocorreu na Granja Xerez, situada no município de Maranguape – Ce, onde foram acompanhados por duas semanas o manejo reprodutivo de machos e fêmeas dentro da granja.

O manejo reprodutivo dos machos resume-se na coleta de sêmen e preparação das doses no laboratório, com finalidade de I.A. O controle reprodutivo das fêmeas na granja é realizado diariamente com objetivo de manter sempre a produtividade, onde os funcionários acompanhavam “de perto” as porcas do momento da concepção até o desmame, mantendo a estabilidade da produtividade da granja. Outros fatores importantes para o controle reprodutivo e o bom desempenho das porcas foram a climatização e o controle nutricional, que também eram rigorosamente empregados na granja.

A classificação dessas fêmeas varia entre Marrãs (Nulíparas) e Matrizes (Pluríparas). O tipo de protocolo varia de acordo com a classificação das fêmeas. Na granja, as marrãs, 15 dias antes de serem cobertas, são transferidas para gaiolas individuais, onde saem da dieta com ração de reposição e recebem o *flushing* - dieta de dois quilos de ração de lactação, oferecidos uma vez ao dia, no período da manhã, e água a vontade. Entende-se por *flushing* um maior aporte de nutrientes para fêmea, o que na prática se traduz em fornecer uma quantidade de ração superior à que a fêmea vinha recebendo ou o mesmo volume de uma ração específica com maior densidade nutricional, por um período de 7 a 10 dias antes da data prevista do cio, com a finalidade de aumentar a taxa de ovulação (LOVATTO, 1996). Após o desmame, as matrizes vão para as gaiolas individuais e recebem *flushing* até o dia que entram no cio, cerca de 3 a 4 kg uma vez ao dia. Segundo Lovatto (1996), no caso de fêmeas pluríparas não se recomenda o uso do *flushing*, pois o mesmo não exerce efeito sobre a taxa

de ovulação. Entretanto, em condições de desgaste intenso devido a lactação ou sub-alimentação, o *flushing* tem resultados compensatórios.

### 3.3.9 COLETA DE SÊMEN E PREPARAÇÃO DAS DOSES

Na granja, a frequência de coleta de sêmen variava de acordo com a demanda de I.A., geralmente realizada segunda-feira, terça-feira e quarta-feira, que são os dias de maior demanda, porém se houvesse alguma necessidade de coleta nos outros dias, o procedimento era realizado. A coleta de sêmen e a preparação das doses são realizadas no prédio onde ficavam as baias dos reprodutores, a sala de coleta, sala de resfriamento e o laboratório. Ao ser escolhido, o reprodutor foi direcionado à sala de coleta, onde este foi mantido preso para os seguintes procedimentos:

#### 3.3.9.1 Limpeza do Prepúcio

A parte externa do prepúcio do reprodutor foi lavada com água corrente e detergente neutro e a parte de dentro foi lavada apenas com água corrente, eliminando qualquer tipo de resíduo (urina, sêmen etc) (Figura 24).

Figura 24: Limpeza do prepúcio do reprodutor.



Fonte: próprio autor.

#### 3.3.9.2 Material para a Coleta do Sêmen

Para a monta, foi utilizado um manequim de aço inoxidável (Figura 25), onde o reprodutor permaneceu apoiado no momento da coleta. Para a coleta do sêmen foi utilizada uma vasilha plástica, onde o primeiro ejaculado (fração pobre) foi depositado e desprezado

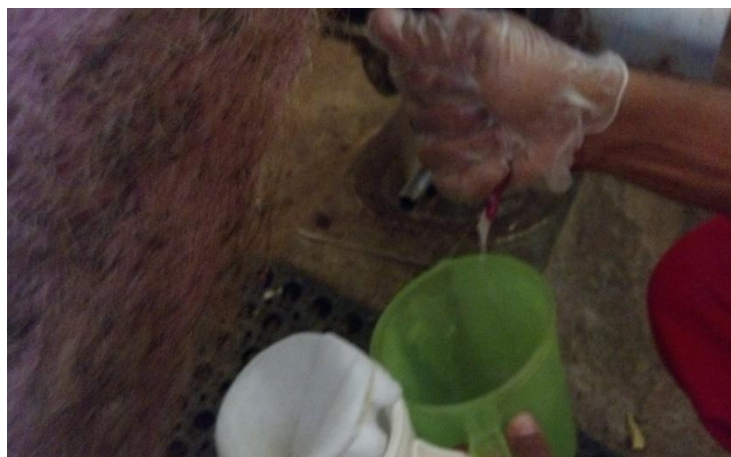
(Figura 26), e um copo de coleta (Figura 27), contendo um copo de plástico térmico de boca larga, um copo de Becker de 400 ml (recipiente onde o sêmen era depositado) cobertos por um filtro apropriado para impedir a entrada de gelatina e impurezas no sêmen coletado (fração rica). O recipiente utilizado para coleta protege o sêmen de variações bruscas de temperatura, bem como da incidência da luz solar ou artificial.

Figura 25: Manequim de aço inoxidável e tapete antiderrapante.



Fonte:ptóprio autor

Figura 26: Coleta do primeiro ejaculado (fração pobre).



Fonte: próprio autor.

Figura 27: Copo de coleta.



Fonte: próprio autor

### 3.3.9.3 Coleta do Sêmen

A técnica utilizada na coleta foi o da mão enluvada (Figura 28), onde o coletor segura o pênis do macho fazendo uma leve pressão com a mão (simulando a cervix da porca)

não deixando o sêmen entrar em contato com a luva, para isso, o coletor deixava a glândula do reprodutor livre sobre o copo de coleta. O ejaculado foi em torno de 400 ml.

Figura 28: Coleta de sêmen (mão enluvada).



Fonte: próprio autor.

Após a coleta, o sêmen, dentro do copo de Becker (Figura 29), foi posto em banho maria e mantido a uma temperatura de 37°C. Na granja só se faz a avaliação da motilidade do sêmen, pois o valor é utilizado nos cálculos para a diluição.

Figura 29: Copo de Becker contendo o ejaculado (fração rica).



Fonte: próprio autor.

Para a diluição do sêmen, foi retirada uma amostra de 0.1ml de sêmen, a qual foi misturada com 9,9 ml de solução contendo solução salina (soro fisiológico) e formol

(procedimento para matar os espermatozoides e facilitar na contagem). Depois de feita a contagem na Câmara de Neubauer os seguintes cálculos foram realizados para a diluição:

1º passo:

$$\text{VALOR TOTAL DA CONTAGEM} \times 5 \text{ (milhões)} = Y$$

2º passo:

$$Y \times \text{FRAÇÃO RICA (ml)} = \text{Nº total de espermatozoides (bilhões)}$$

3º passo:

$$\frac{\text{Nº total de sptz (bilhões)}}{3,5 \text{ (milhões)}} = Z$$

4º passo:

$$Z \times \text{MOTILIDADE} = \text{Nº de doses (100ml cada)}$$

Para a preparação do diluente foi utilizado um litro de água destilada para um sachê de diluente Beltsville Thawing Solution (BTS), onde este permanece em banho maria com temperatura de 37°C (Figura 30). Para cada 100 ml de sêmen, 1.000 ml de solução diluente, logo, para os 400 ml de sêmen coletados foram utilizados 4.000 ml de solução diluente. A diluição foi feita em um copo de Becker de 4.500 ml, onde o sêmen foi posto e misturado cuidadosamente com a solução diluente (Figura 31).



Figura 30: Diluente em banho maria.



Fonte: próprio autor.

Figura 31: Diluição do sêmen suíno.



Fonte: próprio autor.

Após a diluição, o sêmen diluído foi despejado em embalagens apropriadas para o resfriamento e adaptadas para a I.A., cada embalagem contendo 100 ml de sêmen. Após ser embalado, o sêmen armazenado uma geladeira adaptada para o procedimento de resfriamento, onde permaneceu em temperatura balanceada de 15 a 17°C (Figura 32).

Figura 32: Embalagem e resfriamento do sêmen suíno.



Fonte: próprio autor.



### 3.3.10 DETECÇÃO DO CIO

A detecção de cio (DC) ocorria diariamente e duas vezes ao dia nos horários mais frescos (entre 6 e 7 horas da manhã e entre 16 a 17 horas da tarde). Após a alimentação das fêmeas, os funcionários passavam o Varrão pelo galpão das porcas vazias (não prenhes) para o DC (Figura 33), onde, ao passar o macho, era observado o comportamento das fêmeas como a imobilidade na presença do macho, fêmeas urinando com frequência e em baixas quantidades e orelhas erguidas. Este processo envolve estímulos feromoniais, auditivos, visuais e táteis, que afetam a liberação da ocitocina da hipófise nas matrizes e marrãs (MADEJ et al., 2005).

Figura 33: Passagem do macho para DC.



Fonte: próprio autor.

Ao observar estas características, era realizado o teste de retropressão, onde era feita uma pressão na região lombar da porca, para a detecção do cio. Caso a fêmea continuasse imóvel o DC era positivo e caso a fêmea não aceitasse o teste (inquietação e sonorização) o DC era negativo.

Após este procedimento, as porcas com DC positivo são marcadas e separadas para o procedimento de I.A. (Figura 34), que ocorre de acordo com a idade da fêmea: marrãs com DC positivo são marcadas, separadas e inseminadas imediatamente; matrizes com DC positivo são marcadas, separadas e inseminadas após 12 h da DC.

Figura 34: Marcação e separação das fêmeas com (DC positivo) para I.A.



Fonte: próprio autor.

### 3.3.11 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL E DIAGNÓSTICO DE GESTAÇÃO

As fêmeas que apresentaram DC positivo foram separadas em gaiolas individuais para o procedimento de I.A. Primeiramente foi feita a limpeza da vulva da porca (Figura 35), pois é importante que a área esteja totalmente seca e livre de sujeira. Em seguida, foi feita a montagem e a lubrificação do aplicador, onde o recipiente contendo o sêmen resfriado foi acoplado na pipeta, de forma que o funcionário não manteve contato direto com a parte a ser introduzida na vagina da fêmea, evitando o transporte de contaminantes para dentro do trato reprodutivo da mesma. A deposição do sêmen foi cervical. No momento da aplicação era feita massagem na região lombar (Figura 36), fazendo com que a fêmea relaxasse e tornando o procedimento de I.A. mais rápido. Após a deposição completa do sêmen (Figura 37), a pipeta permanecia no trato vaginal da porca por um minuto, evitando o refluxo do sêmen aplicado (Figura 38). Ao fim da inseminação, as fêmeas eram novamente marcadas, separadas (Figura 39).

Figura 35: Limpeza da vulva da porca.



Fonte: próprio autor.

Figura 36: Inseminação (I.A.) (porca)



Fonte: próprio autor.

Figura 37: Deposição do sêmen



Fonte: próprio autor.

Figura 38: Permanência do aplicador evitando refluxo de sêmen.



Fonte: próprio autor.

Figura 39: Marcação das fêmeas inseminadas.



Fonte: próprio autor.

Para o DG, eram previstas duas datas de observação, sendo o 21º dia a data de previsão para o primeiro retorno do cio e o 42º dia a data de previsão para o segundo retorno do cio. Caso a fêmea não apresentasse cio novamente dentro de 21 dias era registrada com DG positivo, porém após 21 dias a fêmea era novamente avaliada como forma de garantir o diagnóstico de gestação. Após serem cobertas (inseminadas) as fêmeas são mantidas sob dieta de dois quilos de ração de gestação oferecida uma vez ao dia, no período da manhã, e água a vontade. No 50º dia após a I.A, as porcas com DG positivo eram encaminhadas para o galpão de gestação, permanecendo em gaiolas individuais (Figura 40) ou em baias coletivas (Figura 41) caso houvesse necessidade de transferência destas fêmeas para a entrada de outras porcas (marrãs ou desmamadas) para um novo protocolo de cobertura.



Figura 40: Gaiolas individuais.



Fonte: próprio autor.

Figura 41: Baías coletivas.



Fonte: próprio autor.

Caso a fêmea apresentasse cio novamente dentro de 21 dias ou 41 dias, era marcada e separada para uma nova I.A. As fêmeas que apresentassem mais de três repetições de cio eram descartadas.

Ao serem transferidas para o galpão de gestação as fêmeas prenhes são vacinadas contra clostridiose, rotavírus, colibacilose e rinite atrofica e mantidas sob dieta de três quilos de ração de pré-lactação oferecida uma vez ao dia, no período da manhã, e água a vontade. Os galpões de gestação são equipados com sistema de arrefecimento por ventiladores e aspersores (Figura 42), onde a climatização é controlada, mantendo as fêmeas sempre em sua zona de conforto térmico e garantindo bons resultados durante essa fase da produção.

Figura 42: Galpão climatizado com sistema de ventilação por aspersão.



Fonte: próprio autor.

#### **4 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Através do estágio supervisionado tive a oportunidade de colocar em prática, ainda na condição de estudante, os conhecimentos adquiridos no decorrer da graduação, além de aperfeiçoá-los com a rotina de trabalho. O estágio foi engrandecedor não só pela experiência adquirida, mas também pela observação de diferentes realidades que me fizeram crescer como 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.

## 5 REFERÊNCIAS

<<http://www.cpt.com.br/cursos-criacaodesuinos/artigos/manejo-reprodutivo-criacao-suinos-fator-decisivo-obtencao-maiores-indices>>. Acessado em: 03 set. 2014.

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.

BHOSREKAR, M.R. **Semen Production Andartificial Insemination.** Published By Baif Development Research Foundation 'Kamdheni' Senapati Bapat Marg, Pune 411 016 (INDIA) First Edition :25, March. p. 6.1990.

BONSMA, J.C. **Wortham lectures in animal Science.** Texas A&M University Press. 1965. 70p.

BORGES, C.H.; BRESSLAU, S. **Produção de leite de cabra em confinamento.** In: VI Simpósio de Pecuária do Nordeste – PECNORDESTE. III Semana da Caprino-ovinocultura Brasileira. Fortaleza-CE, 4 a 7 de junho de 2002.

CLINE, M.A.; RALSTON, J.N.; SEALS, C. et al. **Intervals from norgestomet withdrawal and injection of equine chorionic gonadotrophin or P.G. 600 to estrus and ovulation in ewes.** Journal of Animal Science, v.79, p.589-594, 2001.

COMPÊNDIO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. Intervet: Monika Ptaszynska. cap 2. p. 22. 2007.

CORDEIRO, P.R.C.; CORDEIRO, A.G.P.C. **A Produção de leite de Cabra no Brasil e seu mercado. Leite de Cabra no Brasil, seu mercado, comercialização e produção.** In: X Encontro de Caprinocultores do Sul de Minas e Media Mogiana Espírito Santo do Pinhal. Maio 2009.

DOMINGUES, O. **O Zebu, sua Reprodução e Multiplicação Dirigida.** 1975, Brochura.

FARIA V.P, CORSI M. **Bovinocultura leiteira: Fundamentos da exploração racional.** In: Simpósio sobre Pecuária Leiteira, 1997, Piracicaba, SP. Anais... Piracicaba, SP: FEALQ, 1997. p.1-15.

FERREIRA A.M. **Manejo reprodutivo e sua importância na eficiência da atividade leiteira**. Coronel Pacheco, MG: EMBRAPA/CNPGL, 1991. (Documentos, 46).

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.

GERVÁSIO, E.W. **Suinocultura - Análise da Conjuntura Agropecuária**. Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento - Departamento de Economia Rural, Fevereiro de 2013. Disponível em [http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/SuinoCultura\\_2012\\_2013.pdf](http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/SuinoCultura_2012_2013.pdf). Acesso em: 03 set. 2014.

GONÇALVES P.B.D. et al. **Produção in vitro de embriões**. In: **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. 2.ed. São Paulo: Roca, 2008. p.261-291.

GONÇALVES, A.L.; LANA, R.P.; VIEIRA, R.A.M. et al. **Avaliação de sistemas de produção de caprinos leiteiros na Região Sudeste do Brasil**. Revista Brasileira de Zootecnia, v.37, n.2, p.366-376, 2008.

GONZÁLEZ, F. et al. **A comparison of diagnosis of pregnancy in the goat via transrectal ultrasound scanning, progesterone, and pregnancy-associated glycoproteins assays**. Theriogenology, v. 62, n. 6, p. 1108-1115, 2004.

HAFEZ, B.; HAFEZ, E.S.E. **Reprodução Animal**. 7. ed. Barueri, SP: Manole, p. 179. 2004.

HAMMERSTEDT R.H., GRAHAM J.K., NOLAN J.P.1990. **Cryopreservation of mammalian sperm: what we ask them to survive**. J. Androl. 11:73-88.

HOLANDA JUNIOR, E.V.; MEDEIROS, H.R.; DAL MONTE, H.L.B. et al. **Custo de produção de leite de cabra na região Nordeste**. In: ZOOTECH 2008. João Pessoa, PB: UFPB/ABZ, 2008.

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

KOO, D. B. et al. **Effects of in vitro fertilization conditions on preimplantation development and quality of pig embryos.** Animal Reproduction Science, v. 90, n. 1-2, p. 101-110, nov. 2005.

LONG, C. R.; DOBRINSKY, J. R.; JOHNSON, L. A. **In vitro production of pig embryos: comparisons of culture media and boars.** Theriogenology, v. 51, n. 7, p. 1375-1390, may. 1999.

LOVATTO, P.A. **Suinocultura geral**, Capítulo 06, Manejo reprodutivo, 1996.

MADEJ A. et al. **Factors regulating ovarian function in pigs.** Dom Anim Endocrinol 2005;29:347-361 Meunier-Saiyn MC., Dantzer R. Behaviour environment relationships in pigs: importance for the design of housing and management systems in intensive husbandry. Pig News and Info 1990;11:507-14.

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.

NEVES, J.P.; OLIVEIRA, J. F. C.; SCHOENAU, W. et al. **Inseminação artificial com sêmen congelado em minitubos: influência do momento da aplicação e da concentração espermática por dose.** A Hora Veterinária, Porto Alegre, v. 5, n. 29, p. 49-52, 1986.

NOAKES D.E., PARKISON T.J., ENGLAND G.C.W. 2001. **Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetris.** 8ª. ed. London: Saunders, 868 p.

PÉREZ, L.J. et al. **In vitro capacitation and induction of acrosomal exocytosis in ram spermatozoa as assessed by the chlortetracycline assay.** Theriogenology, v. 45, p. 1037-1046, 1996.

PIMENTEL, CLÁUDIO ALVES. Revista **Cultivar Bovinos: "Manual para diagnóstico"** (1998). Disponível em [www.grupocultivar.com.br/site/content/artigos/artigos.php?id=143](http://www.grupocultivar.com.br/site/content/artigos/artigos.php?id=143) acesso em 03/09/14.

ROLDAN, E.R.S.; GOMENDIO, M. **Morphological, functional and biochemical changes underlying the preparation and selection of fertilizing spermatozoa in vitro.** Animal Reproduction Science, v. 28, p. 69-78, 1992.



ROMAR, R.; COY, P.; GADEA, J.; RATH, D. **Effect of oviductal and cumulus cells on zona pellucida and cortical granules of porcine oocytes fertilized in vitro with epididymal spermatozoa.** Animal Reproduction Science, v. 85, n. 3-4, p. 287-300, feb. 2005.

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

TORRES-JÚNIOR et al. **Considerações técnicas e econômicas sobre reprodução assistida em gado de corte.** Revista Brasileira de Reprodução Animal, Belo Horizonte, v.33, n.1, p.53-58, jan./mar. 2009.

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.