

## USO DE SÊMEN RESFRIADO E CONGELADO EM PROGRAMAS DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO EM BOVINOS

Rafael de Oliveira Barcelos<sup>1</sup>  
Pedro Cesar Filho Savi<sup>2</sup>

**RESUMO:** A inseminação artificial (IA) em bovinos é uma metodologia que vem sendo multiplicada no decorrer dos anos com intuito de aumentar e melhorar a reprodução animal. Essa técnica consiste em reduzir o intervalo entre gerações e aumentar os valores genéticos dos animais. Esse estudo tem como objetivo principal de avaliar a taxa de concepção das vacas, utilizando sêmens resfriados e congelados. Neste trabalho foram utilizados 4 touros da raça nelore para a inseminação em 200 vacas da raça nelore, no qual foram separadas em um único lote sendo inseminadas 50 doses de sêmen de cada touro, as vacas foram protocoladas com a utilização de medicamentos hormonais de sincronização do ciclo estral, tendo início no mês de setembro e se estendendo para o mês de outubro de 2022. Os touros utilizados passaram por avaliação andrológica no qual o touro I (sêmen resfriado) teve a motilidade de 90% e vigor 3, touro II (sêmen resfriado) 80% de motilidade e vigor 3, touro III (sêmen congelado) 70% de motilidade 3 de vigor e no touro IV (sêmen congelado) 65% de motilidade e 3 de vigor. O diagnóstico de gestação foi realizado com 33 dias gestação obtendo uma taxa de concepção de 65% de sêmen resfriado e de 59% de sêmen congelado. O estudo mostrou que o método de sêmen resfriado possuiu maior taxa de concepção, uma vez que, sofre menos processo de manipulação, ao contrário do sêmen congelado.

4217

**Palavras-Chave:** Criopreservação. Taxa de Concepção. Refrigeração.

**ABSTRACT:** Artificial insemination (AI) in cattle is a methodology that has been multiplied over the years in order to increase and improve animal reproduction. This technique consists of reducing the interval between generations and increasing the genetic values of animals. This study has as main objective to evaluate the rate of conception of cows, using cold and frozen semen. In this work, 4 nellore bulls were used for insemination in 200 nellore cows, in which they were separated into 4 lots of 50 cows, which were filed with the use of hormonal drugs to synchronize the estral cycle, starting in September and extending to October 2022. The bulls used underwent andrological evaluation in which bull I (cold semen) had the motility of 90% and vigor 3, bull II (cold semen) 80% motility and vigor 3, bull III (frozen semen) 70% of motility 3 of vigor and in bull IV (frozen semen) 65% motility and 3 of vigor. The diagnosis of pregnancy was made at 33 days gestation obtaining a conception rate of 65% of cold semen and 59% of frozen semen. The study showed that the cold semen method had a higher rate of conception, since it undergoes less manipulation process, unlike frozen semen.

**Keywords:** Cryopreservation. Design Rate. Refrigeration.

<sup>1</sup>Graduando em Medicina Veterinária pelo Centro Universitário UNINASSAU UNIFACIMED.

<sup>2</sup>Docente Mestre do curso de Medicina Veterinária pelo Centro Universitário UNINASSAU UNIFACIMED.

## INTRODUÇÃO

Entre os anos de 2002 a 2020 é possível identificar um aumento significativo do emprego da IATF pelos produtores no Brasil, a taxa de crescimento anual composta (CAGR: Compound Annual Growth Rate) do número de protocolos comercializados foi de 34,7%. (BARUSELLI et al., 2021). Com o avanço tecnológico e a expansão mundial do mercado de carne, surgem com ela novas exigências como melhor qualidade dos produtos e maior segurança alimentar, (PESSUTI E MEZZADRI, et al., 2004). Com a técnica da IATF é possível que o produtor escolha qual momento inseminar sem precisar que a natureza determine, sua utilização permite que tenha maior produção e qualidade do rebanho (BARUCELLI, et al., 2004).

Existem fatores que podem influenciar no resultado da IATF e a viabilidade espermática é um deles. A técnica utilizada da criopreservação do sêmen há uma grande perda de células espermáticas durante o processo (JORGE ANTONIO FERREIRA DE LARA et al., 2020).

Somente espermatozoides viáveis conseguem interagir com ovócito e iniciar o processo de fertilização (WALTERS et al., 2004), se houver defeitos na estrutura da morfologia estrutural das células espermáticas corresponde que pode ter uma possível infertilidade do touro ou uma baixa taxa de concepção (SAACKE et al., 1999). Com a análise andrológica, possibilita-se a identificação de touros com baixos índices de fertilidade, assim é possível evitar que esses animais entrem nos programas de congelamento de sêmen e nos testes de progênie (JANUSKAUSKAS e ZIIINSKAS, 2002).

De acordo com (CENVA et al., 2013) existem fatores que diferenciam o sêmen fresco e o sêmen congelado. O sêmen fresco pode oferecer maior taxa de prenhez e o sêmen congelado possui maior flexibilidade quanto ao uso, massa pós o descongelamento ocorre algumas mudanças drásticas como motilidade e vigor dos espermatozoides, isso acontece por que há uma diminuição da viabilidade espermática por haver grande estresse térmico, químico, mecânico e osmótico. Mas é possível utilizar um bom diluente que amenize tais consequências, adiciona-se agente crio protetores, que protegem a célula contra o congelamento.

Quando o sêmen é resfriado a 5°C reduz o metabolismo espermático levando ao aumento da longevidade do espermatozoide e mais flexibilidade no uso do sêmen se comparar com o sêmen fresco (VISHWANATH & SHANNON, 2000).

Pode ocorrer prejuízo que surge na combinação de alguns aspectos, como perda da viabilidade espermática ou danos na capacidade funcional dos espermatozoides, uma vez que a motilidade e a estrutura dos espermatozoides são amplamente danificados de diferentes formas, podendo cometer injúrias nas diferentes etapas de congelação e descongelação (WATSON, 2000).

Segundo (VISHWANATH et al. 2003), a utilização do sêmen refrigerado de bovinos tem como maior vantagem na otimização de touros geneticamente superiores que possuem baixa resistência ao congelamento do sêmen e maior acessibilidade.

## REFERENCIAL TEÓRICO

### Espermatozoides

Os espermatozoides basicamente são célula muito bem polarizadas, que gradativamente perde mais suas habilidades de biossíntese e crescimento, e as vezes divisão celular (YOSHIDA, et al.,2000). O mesmo pode ser dividido em duas estruturas basicamente, que seria a cabeça e a cauda, a cada macho de espécie diferente o espermatozoide muda sua cabeça, mas sua locomoção não muda, pois, a estrutura da sua cauda não muda de espécie para espécie (NATHALIA, et al., 2013).

As suas características principais são na sua cabeça, que se encontra a estrutura chamada de núcleo achatado (contendo a cromatina) que se encontra compactada no espermatozoide (HAFEZ, et al., 2004).

De acordo com (SIQUEIRA, et al.,2004), espermatozoides possuem muitas estruturas na sua anatomia, a cauda especificamente é composta pelo colo, peça intermediária, principal e terminal. A parte central da peça intermediária junto com o comprimento total da cauda forma o axonema que essa estrutura faz com que ocorra a transformação energética mecânica.

Além dessas estruturas, elas são recobertas por algumas mitocôndrias encontradas em forma de hélice, gerando movimentação para o mesmo conseguir seu objetivo de fecundação (HOSKINS, et al., 1990).

Basicamente 3 lipídeos fazem parte da estrutura do espermatozóide; fosfolipídios, glicolipídio e colesterol, sabendo disso, os fosfolipídios são mais abundantes nos espermatozoides (ALBERTS, et al., 1997). Conseqüentemente o colesterol é o principal esterol presentes nos espermatozoides e nas membranas celulares dos mamíferos que cumpre um papel muito importante que é de modular a fluidez a estabilidade da bicamada lipídica (PARKS, et al., 1997).

De acordo com (SEVERO, et al., 2009), a melhor forma de adquirir uma melhora resposta de fertilidade bovina é avaliar suas características multifatorial acerca da funcionalidade e estrutura espermática, logo saberemos o padrão de qualidade do sêmen como a motilidade e vigor espermático.

Na avaliação rotineira das características morfológicas dos espermatozóides, basicamente são feitas duas técnicas; esfregaço corado, em microscópio de campo claro e a preparação úmida com microscópio de contraste de fase (ARRUDA, et al., 2015). Em algumas literaturas citam que a análise seminal de rotina não seria o mais adequado na avaliação de danos na cromatina espermática, logo essa avaliação não impede de ser feita de forma correta (SIMÕES, et al., 2014).

4220

Como o espermatozóide é uma célula translúcida a sua visualização sob o microscópio ótico comum, não é muito nítida, por isso o que seria mais adequado para essa avaliação, poderia ser a técnica de esfregaço corado (CALEGHINI, et al., 2005).

A motilidade progressiva dos espermatozoides é considerada um dos mais importantes aspectos a serem avaliados, também é avaliado o vigor que representa a intensidade de movimentação do mesmo, e normalmente é classificado em uma escala de 0 a 5 (MARQUES, et al., 2006). Logo o vigor está diretamente relacionado com a motilidade do espermatozóide, sabendo disso, quando tem um vigor baixo, normalmente a motilidade também vai estar baixa (ANCHIETA, et al., 2005).

A integridade da membrana plasmática do espermatozóide é especificidade fundamental para sua fecundação. Basicamente a membrana plasmática atua como barreira entre o meio interno e externo (PAPA, et al., 2000). Em condições de estresse causadas por criopreservação, as membranas sofrem arranjos, com isso induzindo o rompimento da membrana do espermatozóide (AMANN e GRAHM, et al., 1993).

## CONSERVAÇÃO DO SÊMEN

De acordo com (SILVA, et al., 2002), a temperatura mais comumente utilizada para o resfriamento do sêmen é de 4° a 5°. Quando o sêmen é refrigerado basicamente reduz o metabolismo espermático, logo conseguindo uma longevidade dos espermatozóides comparado ao congelado.

O sêmen resfriado consegue trazer muito benefícios além de uma resposta de concepção melhor. (DELL'AQUA, et al., 2013) cita que seu uso traz um custo reduzido muito baixo além da simplicidade na hora de ser manipulado na inseminação artificial quando comparado ao sêmen congelado.

Mas alguns cuidados devem ser realizados com o sêmen resfriado. Quando o espermatozóide for resfriado de maneira inadequada, o mesmo sofre choque-térmico, logo prejudicando na sua conservação e conseqüentemente alterando os padrões de motilidade (GRAHAM, et al., 1996). A utilização de sêmen congelado deve se por utilizar sêmens de touros de outros lugares, como do Brasil ou do mundo inteiro, reduzindo pouquíssimas alterações com o mesmo. Porém o processo que o espermatozoide sofre com o estresse de criopreservação que seria; a diluição, resfriamento, adição e penetração do crioprotetor, congelamento e descongelamento (CARNEIRO, et al, 2007).

De acorde com (WATSON, et al., 2000) o processo de criopreservação dos espermatozoides, resulta em algumas mudanças na sua forma, como; danos na capacidade funcional do mesmo e as estruturas dos espermatozóides são afetadas de diferentes formas, como rupturas de membranas ou alterações nas funções espermáticas, ocorrendo um inadequado congelamento.

As principais injurias do choque térmicos ocorrem entre 15 a 5°C de temperatura no qual o sêmen bovino é mais frágil (STORNELLI, et al., 2005). Os espermatozoides basicamente são extremamente sensíveis a criopreservação e esses efeitos negativos depende principalmente concentrações utilizadas no sêmen bovino. De acordo com (SANTOS, et al., 2003), aqueles espermatozóides que não alteram nenhuma das suas qualidades aos efeitos da criopreservação, são denominados de bons sêmens para o congelamento.

## DILUENTES UTILIZADOS NOS SEMEN A FRESCO

As utilizações de diluidores garantem um ambiente mais favorável para a sobrevivência do espermatozoide, assim diminuindo os danos e aumentando sua vida útil. De acordo com (TUNER, et al., 2020) é muito comum utilizar a gema do ovo como um diluente, pois fornece proteção ao choque térmico, preservando assim a motilidade e a integridade da membrana plasmática. As lipoproteínas presentes a gema do ovo associa a membrana plasmática do espermatozóide, preservando sua integridade durante a criopreservação.

A utilização da gema do ovo na diluição nem sempre será vantajosa, pois o mesmo não a padronização de componentes, logo a chance de contaminação aumenta, por isso a motivação ao uso de diluidores formulados com diferentes composto, apresentam a mesma ou melhor conservação do espermatozóide do que a utilização de diluentes de origem animal (LAYEK, et al., 2016). Quando são misturando com o diluente além de terem uma vida prolongada, os espermatozoides aumentam sua motilidade, por conta de o diluente ter uma variedade de vitaminas como; carboidratos, sais minerais, antioxidantes e antibióticos.

4222

## AVALIAÇÃO DA INTEGRIDADE DO DNA

A integridade do DNA do espermatozoide é considerada um dos aspectos mais importantes dentro da reprodução animal, pois nesta avaliação vão ser escolhidos os espermatozoides da melhor qualidade de integridade do DNA que futuramente serão passados de pai para filhos. Quaisquer danos no DNA podem ocasionar sérios problemas como a morte celular e a ocasionar problemas nas gerações futuras. (CARREIRA, et al., 2008).

De acordo com (MARTINS, et al., 2008) durante alguns anos os estudos foram identificando alguns métodos de avaliação de espermatozóide e a integridade do DNA e umas delas foi o método de túnel, que basicamente é considerada ter uma melhor precisão aos danos do DNA, inclusive é recomendado para a avaliação da análise de rotina dos espermatozoides. Entre milhões de espermatozóide no sêmen, não é raro que muitos deles ocorra a fragmentação do DNA, porém quanto ao número de gametas masculino fragmentados está alto, menores são as chances de haver uma fecundação do oócito.

## METODOLOGIA DA PESQUISA

O experimento foi realizado no estado do Mato Grosso, no período de setembro a outubro de 2022. Para esta pesquisa foram utilizados sêmen de quatro touros, no qual foram administrados dois sêmens resfriados e dois sêmens congelados em vacas da raça nelore múltiparas, no qual foram divididas em um único lote e usadas 50 doses de cada touro, totalizando 200 vacas.

Para avaliar os sêmens dos touros, foi realizada avaliação andrológica, para a identificação da motilidade e vigor dos sêmens. Os touros foram divididos em dois grupos para a realização da coleta do sêmen.

O touro I apresentou uma motilidade de 90% e 4 de vigor, o touro II apresentou uma motilidade de 80% e 3 de vigor, já o touro III apresentou uma motilidade de 70% e de 3 de vigor e o touro IV apresentou uma motilidade de 65% e 3 de vigor. As vacas nelores que foram utilizadas para essa pesquisa passaram por uma avaliação ginecológica através da ultrassonografia, e sendo avaliado pelo seu escore de condição corporal (ECC), no qual a média do lote de 200 foi de 3,5.

Com a sincronização do período de fertilização das fêmeas bovinas, conseguiu-se que todos os animais entrem em estro ao mesmo tempo, o que é facilitado a observação e manuseio. Além da sincronização, a IATF também pode reduzir o intervalo entre as entregas. Portanto, ela pode produzir um bezerro por ano e manter o mínimo de secura possível entre as lactações.

As vacas que foram selecionadas seguiram o processo de sincronização para a ovulação, sendo aplicado o protocolo convencional de inseminação. Para que a sincronia do ciclo estral de cada animal aconteça são utilizados hormônios semelhantes aos já produzidos pelo seu organismo.

Foi utilizado no dia 0 do protocolo de IATF, o dispositivo convencional intravaginal de progesterona<sup>3</sup> junto com a administração de benzoato de estradiol (BE)<sup>4</sup>. No dia 8 do protocolo, foi realizada a retirada do dispositivo intravaginal e feita a administração dos

---

<sup>3</sup>Progesterona (Sincrogest®, Ourofino, 20g, intravaginal); <sup>4</sup>Benzoato de estradiol (Sincrodiol®, Ourofino, 2,0 ml, intramuscular); <sup>5</sup>Gonadotrofina coriônica equina (Sincro eCG®, Ourofino, 1,5 ml intramuscular); <sup>6</sup>Cipionato de estradiol (SincroCP®, Ourofino, 1,0 ml, intramuscular); gonadotrofina coriônica equina (eCG) <sup>8</sup>Opitidux® (Reprodux, 1/1).

medicamentos, prostaglandina (PGF<sub>2a</sub>)<sup>5</sup>, cipionato de estradiol (CP)<sup>6</sup> e gonadotrofina coriônica equina (eCG) <sup>7</sup>.

Após a sincronização das vacas, no dia 29 foi realizado as coletas dos sêmens para a inseminação artificial (dia 10 do protocolo), a coleta de sêmen foi realizada e diluída ao diluente opidux<sup>8</sup>, responsável por nutrir os espermatozoides afim de melhor sua capacidade de motilidade e vigor como atesta (TUNER, 2020). A quantidade usada para diluir o sêmen foi de 1/1, e após a diluição o sêmen foi transferido para a paleta de sêmen de 0,25ml e encaminhada para a inseminação. Após 33 dias logo a inseminação artificial (IA), as vacas foram submetidas ao diagnóstico de gestação com o auxílio do ultrassom para a obtenção da taxa de concepção.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Entre os animais selecionados, foram inseminadas 200 vacas multíparas com a administração de 100 doses sêmen resfriado e 100 doses de sêmen congelado.

Após realizar o diagnóstico de gestação nas vacas, obteve-se o resultado de 65% (65/100) de prenhes com o sêmen resfriado e 59% (59/100) de prenhes de sêmen congelado como será apresentado na **tabela 1** a seguir.

**Tabela 1:** Quantidade de animais bovinos fêmeas submetidas a IATF com utilização de sêmens congelados e resfriados.

Categoria Animal	Tipos de Sêmen	Vacas Inseminadas	Prenhes (+)	Total
Vacas	Resfriado	100	65	65%
	Congelado	100	59	59%

**Fonte:** Dados de Pesquisa, Oliveira e Filho, 2022.

Segundo Marques et al., (2006) a motilidade progressiva dos espermatozoides é considerada um dos mais importantes aspectos a serem avaliados, também é avaliado o vigor que representa a intensidade de movimentação do mesmo, e normalmente é classificado em uma escala de 0 a 5.

Logo o vigor conforme Anchieta et al., (2005) está diretamente relacionado com a motilidade do espermatozóide, sabendo disso, quando tem um vigor baixo, normalmente a motilidade também vai estar baixa.

De acordo com (SEVERO, et al., 2009), a melhor forma de adquirir uma melhor resposta de fertilidade bovina é avaliar suas características multifatorial acerca da funcionalidade e estrutura espermática, logo saberemos o padrão de qualidade do sêmen como a motilidade e vigor espermático.

A taxa de prenhes do **touro I** foi de 62% (50/200) com o sêmen resfriado, o **touro II** obteve uma taxa de 68% (50/200) com o sêmen resfriado, **touro III** obteve uma taxa de 64% (50/200) e por último o **touro IV** teve uma taxa de 54% (50/200).

4225

Observou-se através dos resultados obtidos em pesquisa que, o touro I apresentou uma motilidade de 90% e 4 de vigor sendo superior aos demais touros nos aspectos avaliados, entretanto o touro I obteve um percentual final de prenhes de 62% sendo inferior ao touro **II e III**.

O touro **II** apresentou uma motilidade de 80% e 3 de vigor, não obtendo o melhor resultado referentes aos aspectos avaliados (motilidade e vigor) entretanto, deve ser ressaltado que embora não tenha apresentado o melhor resultado em relação a motilidade e vigor, o touro **II** foi o que apresentou maior quantidade e porcentagem de prenhes.

Já o touro **III** apresentou uma motilidade de 70% e de 3 de vigor e mesmo assim obteve uma prenhes superior ao touro **I**, que foi o touro que -se apresentou melhor nos aspectos relacionados as motilidade e vigor.

O touro **IV** apresentou uma motilidade de 65% e 3 de vigor sendo o que obteve o pior resultado tanto referente a motilidade e vigor quanto no quesito de quantidade e porcentagem de prenhes como apresentado na **tabela 2** logo a baixo.

**Tabela 2:** Porcentagem de prenhes por touro, resfriado e congelado.

<b>Categoria Animal</b>	<b>Motilidade</b>	<b>Vigor</b>	<b>Quantidade de Prenhes (+)</b>	<b>Porcentagem de prenhes %</b>
<b>Touro 1</b>	90%	4	31	62%
<b>Touro 2</b>	80%	3	34	68%
<b>Touro 3</b>	70%	3	32	64%
<b>Touro 4</b>	65%	3	27	54%

**Fonte:** Dados de Pesquisa, Oliveira e Filho, 2022.

Referente a diferença numérica de prenhes do sêmen resfriado para o congelado é considerada relativamente pequena, apresentando uma diferença de apenas (6%) de prenhes do sêmen resfriado para o sêmen congelado.

4226

De acordo com Watson (2000) a utilização do sêmen congelado apresenta uma taxa de concepção menores em relação ao sêmen resfriado, pois a formação de cristais de gelo extra e intracelular e, a ruptura da membrana é o processo de maior ocorrência na congelação e podem contribuir para uma menor taxa de concepção.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nas condições em que o trabalho foi realizado, pode se concluir que a categoria do sêmen resfriado e congelado interferiram na taxa de concepção. Os sêmens resfriados apresentaram uma taxa de prenhes maior em relação ao sêmen congelado uma vez que esses sêmens sofrem o processo de congelação lenta, provocando danos estruturais, formando cristais de gelo, efeitos tóxicos da solução crioprotetora além de choque osmótico, assim proporcionando uma taxa de concepção menos quando comparada ao sêmen resfriado.

Em virtude dos fatos mencionados, a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) continua sendo uma técnica empregada mundialmente na reprodução animal, onde a partir desse método é possível produzir mais descendentes geneticamente de um único touro, além de diminuir o intervalo entre gerações e ter um aceleração no melhoramento genético nas gerações futuras.

## REFERÊNCIAS

ALBERTS, B; BRAY, D; LEWIS, J; RAFF, M; ROBERTS, K; WATSON, J. D. *Biologia Molecular da célula*. 3<sup>o</sup> ed. Editora artes médicas, 1997, 1294p.

AMANN, R. P; GRAHAM, J. K. Spermatozoalfunction. In: McKINNON, A. O., VOSS, J.L. *EquineReproduction*. 1<sup>a</sup>. ed. Philadelphia: Lea &Febinger, 1993, Cap. 8o, p.715- 746.

ANCHIETA.; VR. VALE FILHO.; E. COLOSIMO.; I.B.M. SAMPAIO.; VJ. ANRADE. Descarte e Conge labilidade do sêmen de touros zebuínas e taurinas em central de inseminação artificial no Brasil, v. 57 p. 196-204, 2005.

ARRUDA, RP.; CELEGHINI, ECC.; GARCIA, AR. et al. Impacto da qualidade do sêmen sobre a fertilidade a campo em bovinos. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, Belo Horizonte, v.39, n.1, p.47-60, jan./mar. 2015.

BARUSELLI.; P.S. J. AMEIDA.; M.F BRITO.; B.P. BECERRA.; M. HERRY. Uso de sêmen resfriado de búfalo com estratégia para aumentar a taxa de concepção, maio/junho 2021.

BERGSTEIN, TG.; WEISS, RR.; BICUDO, SD. Técnicas de análise de sêmen. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, Belo Horizonte, v.38, n.4, p.189-194, out./dez. 2014.

BRITO.; BANDEIRA SANTOS.; L.C.P. MAIA. Congelado do sêmen de pequenos ruminantes sem uso de gema de ovo utilizado bases vegetais em substituição a gema de ovo, junho/dezembro 2018.

CALEGHINI.; Efeitos da criopreservação do sêmen bovino sobre as membranas plasmática, acrossomal e mitocondrial e estruturas da cromatina dos espermatozoides utilizado sondas fluorescentes, 2005.

CARREIRA, JT. Avaliação da integridade do acrossoma, membrana citoplasmática, potencial mitocondrial, cromatina e produção de embriões in vitro de sêmen bovino com altos índices de gota citoplasmática proximal. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp. Jaboticabal, São Paulo, 2008.

CARNEIRO, G. F; SILVA, S. V; MEDEIROS, L. R. D; GOMES, N. O; PROCÓPIO, O. C. S. Utilização prática de sêmen congelado. In: ASSIST (Simpósio Brasileiro de

Reprodução Assistida em Caprinos e Ovinos), 1, 2007. Anais..., Gravatá, PE: ASSIST, 2007. CD-ROM.

C.P.D.F. AQUA.; MONTEIRO.; RAMIRES.; SANCLER-SILVA.; G.A. MONTEIRO. Efeito da adição de plasma seminal de animais de alta e baixa fertilidade na criopreservação de espermatozoides da cauda do epidídimo e do ejaculado de grandes subfêteis, maio/junho 2019.

E.F. GRAHAM. Papel da motilidade espermática e integridade acrossômica na filtração do sêmen bovino, 1991.

HAFEZ, E. S. E; HAFEZ, B. Capítulo 04. Ciclos reprodutivos. Reprodução Animal. 7º edição. 499 páginas. Barueri: Manole LTDA, 499 páginas. p: 55-68. 2004.

HOLT, W. V. Basic aspects of frozen storage of sêmen. Animal Reproduction Science, v. 62, n. 1-3, p. 03-22, 2000.

JANUSKAUSKAS A, ZILINSKAS H. Bull semênevaluation post-thaw and relationsemencharacteristicstobullsfertility. VetZootech, v.39, p.1-8, 2002.

JORGE ANTONIO FERREIRA DE LARA.; sêmen resfriado de bovino em protocolos de IATF.

SS. LAYEK.; MOHANTY.; KUMARESAN.; J.E. PARKS. Criopreservação de sêmen de touro: evolução da gema de ovo para diluidores a base de soja, v.172, p.1-9,2016.

4228

MARTINS, CF., DODE, MN.; BÃO, SN.; RUMPF, R. Método do túnel: uma ferramenta alternativa para avaliar a integridade do DNA de espermatozoides bovinos. Planaltina, Distrito Federal, Embrapa Cerrados, 2008.

MARQUES, D. C. Criação de bovinos. 7. Ed. ver, atual e ampliada. Belo Horizonte: CVP-Consultoria Veterinária e Publicações, 2006. Cap. 4, p. 269-271.

NATHALIA. C; uso de sêmen fresco e refrigerado em programas de inseminação artificial em tempo fixo em bovinos, 2013.

PARKS, J. E. Hypothermia and mammalian gametes, in KAROW of diferente extenders and store temperatures on sperm viability of liquid ram sêmen. v.57, p. 229-261.

PAPA, F. O; GABALDI, S. H; WOLF, A. Viabilidade espermática pós-descongelção de sêmen bovino criopreservados com meio diluente glicina-gema em quatro diferentes tempos de estabilização. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v.24, p.39-44, 2000.

PESSUTI, O.; MEZZADRI, F. P. Atualidade e perspectivas da pecuária paranaense. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA, 1., 2004, Londrina. Anais... Londrina: [s.n.], 2004. p. 21-27, 2004.

SAACKE, R.G.; NADIR, S.; DALTON, J. et al. Accessory sperm evolution and bullfertility and update. Technical Conference on Artificial Insemination and Reproduction, v.15, p.57- 67, 1994.

SANTOS, O. E. C. Viabilidade in vitro do sêmen de cão submetido a congelamento com diferentes diluidores e crioprotetores. Belo Horizonte, MG: UFMG. 60 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, 2003.

SEVERO, N. C. Influência da qualidade do sêmen bovino congelado sobre a fertilidade. A hora Veterinária. ano 28. Jan-fev. 2009.

SILVA FILHO, J. M. Membrana plasmática do espermatozoide. Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia, n. 36, p. 45-53, 2001.

SILVA, L. D. M; SILVA, A. R; CARDOSO, R. C. S; GONSALVES, P. B. D; FIGUEIREDO. J. R; FREITAS, V. J. F. (Eds). Biotécnicas aplicadas à reprodução animal. São Paulo: Varela, 2002.

STORNELLI, M. C; TITTARELLI, C. M; SAVIGNONE, C. A; STORNELLI, M. A. Efecto de los procesos de criopreservación sobre la fertilidad seminal. Analecta Veterinária, v.25, p.28-35, 2005.

SIMÕES, R.; SIQUEIRA, AFP.; NICHI, M.; VISINTIN, JA.; ASSUNPÇÃO, MEOD. Qualidade da cromatina espermática e sua implicação no desenvolvimento embrionário inicial de bovinos. Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP. v. 12, p. 18- 35, 2014.

4229

SIQUEIRA, J.B. Relação da fertilidade de sêmen bovino congelado com teste de avaliação espermática in vitro. 2004. 91 f.

VISHWANATH, R.; SHANNON, P. Storage of bovine semen in liquid and frozen state. Animal Reproduction Science, v. 62, p. 23-53, 2000.

WALTERS, A.H.; EYESTONE, W.E.; SAACKE, R.G.; PEARSON, R.E.; GWAZDAUSKAS, F.C Sperm morphology and preparation method affect bovine embryonic development. Journal of andrology, v. 25, p. 554-563, 2004.

Turner Z, Canisso I, Podico G, Garrett E, Stewart J, Henley P, Shike D, Ellerbrock R, Hurley D, Palomares R, Ferrer M, 2020.

HOSKINS, D. D. The mammalian spermatozoon: morphology, biochemistry and physiology. In: Lamming, G. E. Marshall's Physiology of Reproduction. V.2. London, Churchill Livingstone, p. 379-568, 1990.

YOSHIDA, M. Conservation of sperms: current status and new trends. Animal Reproduction Science. 60-61 p.349-355, 2000.