

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO**

**Inseminação Artificial em Tempo Fixo em Vacas Multíparas
com Sêmen Heterospérmico**

Ricardo Garcia de Almeida

CAMPO GRANDE – MS, 2013

Lombada

ANO	TÍTULO DO TRABALHO AUTOR	SOBRENOME DO
-----	-----------------------------	--------------

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO**

**Inseminação Artificial em Tempo Fixo em Vacas Multíparas com
Sêmen Heterospérmico**

**Fixed-Time Artificial Insemination in Multiparous Cows with Heterospermic
Semen**

Ricardo Garcia de Almeida

**Orientador: Prof. Dr. Fábio José Carvalho Faria
Coorientador: Prof. Dr. Deiler Sampaio Costa**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Mato
Grosso do Sul, como requisito à
obtenção do título de Mestre em
Ciência Animal. Área de
concentração: Produção Animal.

CAMPO GRANDE – MS, 2013

Certificado de aprovação (fornecido pela secretaria)

DEDICATÓRIA

*Dedico esta dissertação a Deus que sempre me
guiou em seu caminho e me deu força para
superar cada desafio...*

*Aos meus pais pelo amor incondicional e pela
dedicação em me educar...*

*Ao meu irmão pela amizade e apoio em todos os
momentos da minha vida...*

*Aos meus sobrinhos pela alegria que trouxeram
pra minha vida...*

*À minha namorada por ser uma pessoa muito
especial em minha vida e me tornar uma pessoa
melhor e mais feliz...*

AGRADECIMENTOS

A Deus por me conceder a benção da vida e sempre por pessoas maravilhosas em minha vida.

Aos meus pais Sebastião Valério de Almeida e Elza Garcia de Almeida pela dedicação em educar com muito amor e carinho.

Ao meu irmão Valério Garcia de Almeida pelo seu apoio em momentos difíceis e por compartilhar momentos alegres.

Aos meus sobrinhos Giovanna e Nathan pela alegria de seus sorrisos e por me entreterem com suas brincadeiras.

À minha namorada Larissa Chaves pela compreensão nos momentos difíceis, apoio nas decisões importantes, companheirismo incondicional e pelo amor e carinho que a faz uma pessoa tão especial em minha vida, te amo.

Aos meus familiares e amigos que sempre confiaram em mim e me apoiaram em minhas decisões.

Ao Professor Dr. Fábio José Carvalho Faria por me mostrar o verdadeiro sentido da palavra orientação. Por me apoiar e me ensinar nessa etapa importante etapa da minha vida não só como orientador, mas como um amigo.

Ao Professor Dr. Deiler Sampaio Costa por sua amizade, por me proporcionar momentos de descontração e por seus conhecimentos, que nos passa de uma maneira tão simples que até parecem fáceis.

Aos proprietários das fazendas onde o experimento foi realizado, por ceder seus animais e seus funcionários, sem os quais este trabalho seria impossível de se realizar.

A todos os colegas do Mestrado que de alguma maneira contribuíram para a realização desta dissertação.

Aos professores do Mestrado que passaram seus conhecimentos de maneira sincera e com muita competência.

EPÍGRAFE

“Sempre parece impossível até que seja feito.”

Nelson Mandela

RESUMO

ALMEIDA, R.G. Inseminação Artificial em Tempo Fixo em Vacas Multíparas com Sêmen Heterospérmico. Ano. 2013, 36 f. Dissertação - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2013.

O presente trabalho objetivou comparar o uso de sêmen convencional e heterospérmico, o tipo e o número de usos do implante de progesterona, o efeito de fazenda e de inseminador e o escore de condição corporal sobre a taxa de gestação em programas de inseminação artificial em tempo fixo. O trabalho foi realizado em quatro fazendas localizadas no Estado de Mato Grosso do Sul, na estação de monta de 2009/2010. Todos os animais utilizados foram submetidos a exame ginecológico prévio e tiveram o seu escore de condição corporal avaliado. O sêmen foi submetido a avaliação da morfologia espermática e ao teste de termorresistência. Não foram observadas diferenças do tipo e do número de usos dos implantes de progesterona, do escore de condição corporal e do tipo de sêmen (convencional x heterospérmico) sobre a taxa de gestação ($p>0,05$). Porém, houve diferença ($p<0,05$) entre fazendas e inseminadores.

Palavras-chave: espermatozoide; Nelore; taxa de gestação.

ABSTRACT

ALMEIDA, R.G. Fixed-time artificial insemination in multiparous cows with heterospermic semen. ano 2013, 36 f. Dissertação - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2013.

The present study aimed to compare conventional and heterospermic semen, type and number of times used of progesterone implants, the herd and inseminator effect and the body condition score on pregnancy rate in fixed time artificial insemination (IATF) programs. The study was conducted in four farms located at Mato Grosso do Sul State, in the breeding season of 2009/2010. All animals were previously submitted to a gynecological examination and their body condition score were assessed. The semen was submitted to a morphological evaluation and to the thermal resistance tests. There were no differences in the type and number of uses of progesterone implants, body condition score and semen type (conventional x heterospermic) on the pregnancy rate ($p>0.05$). However there was difference ($p<0.05$) between herds and inseminators.

Keywords: Nelore, pregnancy rate, spermatozoa.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Taxa de gestação obtida por fazenda.....	15
------------	--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Avaliação das partidas de sêmen homo e heterospérmico utilizadas em programas de IATF.....	14
Tabela 2 -	Relação do número de vacas prenhes por inseminador em programa de IATF nas fazendas.....	16
Tabela 3 -	Taxas de gestação em vacas Nelore inseminadas em tempo fixo com sêmen heterospérmico (HT) ou convencional nas diferentes fazendas.....	17
Tabela 4 -	Média dos escores de condição corporal e taxa de gestação por fazenda estudada.....	18

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BE: Benzoato de estradiol;

CE: Cipionato de estradiol;

E₂: Estrógeno;

ECC: Escore de condição corporal;

eCG: Gonadotrofina coriônica equina;

FSH: Hormônio folículo estimulante;

GnRH: Hormônio liberador de gonadotrofina;

HT: Heterospérmico;

IA: Inseminação artificial;

IATF: Inseminação artificial em tempo fixo;

IM: Intramuscular;

LH: Hormônio luteinizante;

mg: miligrama;

Mhz: Mega-hertz;

Mot.: Motilidade;

P₄: Progesterona;

PGF₂α: Prostaglandina F 2 alfa;

Sptz: Espermatozoide;

TTR: Teste de termo resistência;

UI: Unidade internacional;

Vig.: Vigor;

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	6
INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO EM VACAS MULTÍPARAS COM SÊMEN HETEROSPÉRMICO.....	11
RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	11
INTRODUÇÃO.....	12
MATERIAL E MÉTODOS.....	13
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	15
CONCLUSÕES.....	19
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	19

INTRODUÇÃO

O Brasil se destaca no cenário mundial como um dos maiores produtores de proteína animal, sendo que no ano de 2011 foi o segundo maior produtor e exportador de carne bovina do mundo, ficando atrás dos Estados Unidos e da Austrália, respectivamente (USDA, 2012).

Apesar de a pecuária brasileira figurar entre as melhores do mundo em valores absolutos, sua produtividade ainda fica aquém quando comparada a países mais desenvolvidos. Um exemplo da baixa eficiência na produção de bovinos de corte é a taxa de desfrute, que está em torno de 22%, enquanto que nos Estados Unidos essa taxa é de 37% (USDA, 2012).

Melhorias na qualidade das pastagens e no manejo nutricional, aliadas a investimentos em programas de melhoramento genético, contribuem para o desenvolvimento da produção de bovinos. Essas medidas auxiliam na redução da idade ao abate, no aumento da produtividade e da taxa de desfrute e na qualidade da carne produzida (REIS et al., 2009).

Além dos investimentos em seleção animal, é importante focar na multiplicação dos animais geneticamente melhorados. Neste sentido, a utilização de biotécnicas da reprodução é uma ferramenta que auxilia na disseminação da genética selecionada e aumenta o número de descendentes dos progenitores desejados.

Para realizar um programa reprodutivo eficiente é preciso conhecer a composição do rebanho brasileiro, o que embasará a escolha da tecnologia mais adequada. A população bovina total atualmente é de aproximadamente 208 milhões de cabeças, que se divide 20% de gado de aptidão leiteira e 80% de aptidão para corte. Desse total de animais destinados à produção de carne, que somam mais de 166 milhões, cerca de 133 milhões são zebuínos (*Bos indicus*), com prevalência de mais ou menos 90% da raça Nelore e seus cruzamentos (ABCZ, 2011; MAPA, 2011; ABIEC, 2012).

Como o rebanho brasileiro é predominantemente formado por animais *Bos indicus*, faz-se necessário o conhecimento da fisiologia reprodutivas dessa espécie para definição das técnicas de eleição. Uma das principais diferenças entre taurinos

e zebuínos é a idade para alcançar a maturidade sexual, que segundo Guimarães et al. (2011) há, para rebanho comercial, uma diferença na idade à puberdade quando se compara animais taurinos, que é de aproximadamente 12 a 14 meses, com os zebuínos, que alcançam sua fase púbere em média em torno de 25 a 28 meses.

Outra particularidade das fêmeas zebu é a manifestação de cio durante o período noturno (CHENOWETH, 1994). Pinheiro et al. (1998) observaram o comportamento estral de vacas da raça Nelore e verificaram uma incidência de estro noturno da ordem de 53,8%, sendo que cerca de 30% começaram e terminaram durante a noite, o que dificulta o manejo e decresce a eficiência da detecção do cio. Há também uma variação na duração do estro, que é influenciada pela temperatura ambiente. Lamothe-Zavaleta et al. (1991) verificaram que a duração do estro foi maior em temperaturas abaixo de 27°C, quando comparada acima de 27°C (12,4 vs 9,3 horas, respectivamente).

Além dos fatores citados anteriormente, o fato de o Brasil apresentar um clima tropical com altas temperaturas, solos com baixa fertilidade e com alto grau de degradação, culmina muitas vezes com uma forragem de baixa qualidade e em quantidade insuficiente para um melhor desempenho dos animais (REIS et al., 2009).

Apesar dos animais *Bos indicus* serem mais adaptados às altas temperaturas e umidades, fêmeas mantidas nessas condições apresentam alta incidência de anestro pós-parto, comprometendo o desempenho reprodutivo. Por esse motivo, o emprego da inseminação artificial em tempo fixo (IATF) apresenta-se como uma eficiente ferramenta na sincronização da ovulação e indução de ciclicidade nesses animais (CREPALDI, 2009).

A inseminação artificial (IA) apresenta várias vantagens para a evolução dos rebanhos de bovinos de corte e representa avanço tecnológico na reprodução animal (COWAN, 2010), porém apenas cerca de cinco milhões de animais foram inseminados no ano de 2010 com observação de cio (ASBIA, 2011). Fatores como ineficiência na detecção de estro, criações extensivas e predominância de gado zebu (por apresentarem alta incidência de cio noturno), dificultam a utilização dessa técnica, reforçando a necessidade de técnicas que minimizam esses fatores negativos, como é o caso da IATF (BARUSELLI et al., 2007).

A IATF tem como função principal a sincronização da ovulação de um grande número de animais, facilitando o manejo na inseminação, sem observação do cio. O primeiro protocolo para sincronização foi desenvolvido por Pursley et al. (1995), com uso de apenas dois hormônios, GnRH e PGF_{2α}. Posteriormente outros protocolos baseados na utilização de uma gama maior de hormônios, como implantes de progesterona (P₄), estrógenos (E₂), gonadotrofina coriônica equina (eCG), hormônio folículo estimulante (FSH), hormônio luteinizante (LH), entre outros (MARTINEZ et al., 2002; BARUSELLI et al., 2004; MARTINEZ et al., 2005; MARTINS et al., 2005; VIEIRA et al., 2005). Com grande variação de doses dos fármacos e de momento da aplicação dos mesmos.

Por ser uma biotécnica que sofre influencia de diversos fatores, existem muitas variáveis que podem afetar o resultado da IATF. Dentre elas a categoria animal utilizada, a resposta individual aos fármacos, a condição nutricional dos animais, a qualidade dos hormônios utilizados, o manejo, a qualidade do sêmen, a capacidade técnica do inseminador, entre outros (GARCIA et al., 1999; BARUSELLI et al., 2004; BERTAN et al., 2004; RUSSI et al., 2009).

Para que haja um bom desempenho reprodutivo é necessária uma boa condição nutricional (WILTBANK, 2003). O animal prioriza a energia adquirida para suas funções vitais de manutenção, sendo que apenas quando há uma reserva energética, esta é direcionada para a reprodução (MONTIEL & AHUJA, 2005). A deficiência nutricional suprime a liberação de GnRH, diminuindo concomitantemente a frequência dos pulsos de LH (SCHILLO, 1992), prejudicando o desenvolvimento do folículo dominante e a ovulação (WILTBANK et al., 2002)

Uma forma fácil e confiável de se avaliar a condição nutricional de um animal é por meio da avaliação do escore de condição corporal (ECC) (VISCARRA et al., 1998). Ayres et al. (2007) em seu experimento demonstraram que quanto maior o ECC médio de um rebanho, maior é a taxa de ciclicidade dos animais e Cutaia et al. (2003) obtiveram uma alta correlação ($R^2 = 0,9$) entre a taxa de prenhez e o escore de condição corporal. Dessa forma o ECC pode ser utilizado como ferramenta para prever a condição reprodutiva de um animal, contribuindo para melhorar os resultados de programas de IATF em vacas da raça Nelore (AYRES, 2009).

Diferentes fármacos são utilizados em protocolos de sincronização do estro. Dentre esses hormônios a progesterona e os progestágenos (progesterona sintética) têm um papel fundamental, já que ambos em altas concentrações reduzem a frequência dos pulsos de LH, evitando a ovulação do folículo dominante e juntamente com um estrógeno promovem a atresia folicular (BÓ et al., 1995), levando ao início de uma nova onda folicular (STOCK & FORTUNE, 1993).

Uma maneira de tornar os protocolos de IATF mais viáveis economicamente é a reutilização dos implantes de P₄, uma vez que esses dispositivos continuam liberando quantidade de progesterona suficiente mesmo após uma prévia utilização (MAIO et al., 2008). Sá Filho & Vasconcelos (2008) não observaram diferença na taxa de ovulação, na taxa de concepção e no diâmetro do folículo dominante no dia 11, quando compararam protocolos com implantes de P₄ (CIDR[®]) novos e previamente usados por 9, 18 ou 27 dias.

Outro fator importante a ser levado em conta durante um programa de IATF é a realização correta da técnica da inseminação, propriamente dita. A qualidade do inseminador afeta os resultados não somente pela habilidade de descongelar sêmen, preparar o aplicador e depositar o sêmen no aparelho reprodutor da vaca (RUSSI, 2008), mas também pela capacidade de interação com animais, sem comprometimento do bem-estar e da saúde dos mesmos (HEMSWORTH, 2007).

Um bom inseminador deve causar o mínimo possível de estresse no rebanho, para que não haja interferência nos principais hormônios ligados à reprodução (RIVIER & RIVEST, 1991). Fatores como habilidade, resistência muscular e interação homem-animal, influenciam o desempenho dos inseminadores (RUSSI, 2008), o que deixa evidente a importância da capacitação dos recursos humanos que fazem parte de um programa de IATF (RUSSI et al., 2010).

Um aspecto de suma importância para se obter sucesso em programas de IATF é a qualidade do sêmen utilizado (CRESPILHO, 2007). Existem grandes variações nas taxas de gestações produzidas por touros classificados como aptos para reprodução, as quais podem ser mascaradas pelo manejo reprodutivo inadequado, como estação de monta prolongada ou alta relação touro/vaca no rebanho (KASTELIC & THUNDATHIL, 2008).

Há variações na fertilidade de sêmen congelado de touros de centrais de inseminação, que são considerados como elite, e que apesar de atenderem aos padrões mínimos de qualidade seminal para comercialização, ainda podem apresentar grandes variações na taxa de gestação a campo (LARSON & MILLER, 2000).

Na maioria das vezes os exames usados para se avaliar um touro conseguem identificar animais com alterações graves, mas falham em identificar touros subfêrteis com sêmen aparentemente normal (GADEA et al., 2004). Como a fertilidade de touros é influenciada por uma ampla gama de fatores, um único teste de diagnóstico não pode prever com precisão a fertilidade (PETRUNKINA et al., 2007; RODRIGUEZ-MARTINEZ, 2007).

Como a qualidade do sêmen tem muita influência nos resultados (LOWMAN et al., 1994), diversas são as tentativas para melhorar sua fertilidade, como melhores diluidores e crioprotetores celulares para minimizar os danos causados pelos processos de congelamento e descongelamento (PICKETT & AMANN, 1993) e utilização de vários testes para detectar defeitos nos gametas (BORGES, 2008).

Beatty et al. (1969) relataram que é possível aumentar a fertilidade dos espermatozoides de um indivíduo quando esse é inserido em uma mistura seminal, e que o uso de sêmen heterospermico poderia aumentar a taxa de gestação em rebanhos comerciais. Em muitas espécies as fêmeas copulam com vários machos, como uma estratégia para melhorar sua eficiência reprodutiva (SIMMONS, 2005), o que sugere que a utilização de sêmen heterospermico traria benefícios para a IATF.

Nesse sentido, realizou-se um estudo para comparar os resultados do sêmen de três touros e o heterospermico dos mesmos, em programas de IATF em gado da raça Nelore. Esse experimento está apresentado no capítulo seguinte na forma de artigo científico e redigido de acordo com as normas da Revista Brasileira de Zootecnia.

REFERÊNCIAS

- ABIEC - Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne. Disponível em: <http://www.abiec.com.br/estatisticas/>, acessado em: 29 de novembro de 2012.
- ASBIA - Associação Brasileira de Inseminação Artificial. Disponível em: <http://www.asbia.org.br/novo/upload/mercado/relatorio2011.pdf>, acessado em: 29 de novembro de 2012.
- ABCZ - Associação Brasileira Dos Criadores De Zebu. Disponível em: <http://www.abcz.org.br/AreaTecnica/RegistroGenealogico/Estatisticas>, acessado em 28 de novembro de 2012.
- AYRES, H.; PENTEADO, L.; TORRES-JUNIOR, J.R.S. et al. Escore de condição corporal e espessura da gordura subcutânea como preditores de ciclicidade em vacas Nelore (*Bos indicus*) no período pós-parto. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 35, p. 1051, 2007.
- AYRES, H. **Validação de escore de condição corporal e seu impacto na eficiência reprodutiva de vacas Nelore (*Bos indicus*) inseminadas em tempo fixo. 2009.** 136 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.
- BARUSELLI, P.S.; REIS, E.L.; MARQUES, M.O. et al. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v.82-83, p.479-486, 2004.
- BARUSELLI, P.S.; SALES, J.N.S.; CREPALDI, G.A. et al. Aplicação integrada de programas de controle da ovulação e manejo reprodutivo em bovinos de corte criados em condições extensivas. In: SIMPOSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCION ANIMAL, 7, 2007, Córdoba. **Anais...** Córdoba: IRAC - Instituto de Reproduccion Animal Córdoba, 2007, v. 1, p. 51-75.
- BEATTY, R.A.; BENNETT, G.H.; HALL, J.G. et al. An experiment with heterospermic insemination in cattle. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.19, p.491-502, 1969.
- BERTAN, C.M.; BINELLI, M.; RODRIGUES, P.H.M. et al. Uso do hCG, GnRH ou 17 β -estradiol e progesterona associados ao acetato de melengestrol e prostaglandina F_{2 α} em novilhas cruzadas (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 42, p. 237-249, 2004.
- BÓ, G.A.; CACCIA, M.; MARTINEZ, M. et al. The use of estradiol-17 β and progestogen treatment for the control of follicular wave dynamics in beef cattle. **Theriogenology**, v. 40, p. 165, 1995.
- BORGES, J.C. **Efeito da utilização de antioxidante no diluidor para a criopreservação de sêmen bovino avaliado através de testes complementares, inseminação artificial e fecundação *in vitro*.** 70 f. Tese

(Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008.

CHENOWETH, P.J. Aspects of reproduction in female *Bos indicus* cattle: a review. **Australian Veterinary Journal**, v. 71, p. 422-426, 1994.

COWAN, T. Biotechnology in Animal Agriculture: Status and Current Issues. Congressional Research Service, Analyst in Natural Resources and Rural Development. Acesso 19 nov. 2012. Disponível em: <http://www.cnle.org/NLE/CRSreports/10Oct/RL33334.pdf>.

CREPALDI, G.A. **Eficácia de diferentes protocolos de indução da ovulação e de intervalos de inseminação em vacas de corte submetidas à IATF**. 2009. 87 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

CRESPILHO, A.M. **Efeito do meio diluidor e da dose inseminante sobre a Congelabilidade e fertilidade do sêmen bovino utilizado em Programas de inseminação artificial em tempo-fixo (IATF)**. 2007. 142 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2007.

CUTAIA, L.; TRIBULO, R.; MORENO, D.; BÓ, G.A. Pregnancy rates in lactating beef cows with progesterone releasing devices, estradiol benzoate and equine chorionic gonadotropin (eCG). **Theriogenology**, v. 59, p. 216, 2003.

GADEA, J.; SELLES, E.; MARCO, M.A. The predictive value of porcine seminal parameters on fertility outcome under commercial conditions. **Reproduction of Domestic Animals**, v. 39, p. 303–308, 2004.

GARCIA, A.R.; ARRUDA, R.P.; MADUREIRA, E.H. et al. Influência do uso de sêmen resfriado e da aplicação de GnRH sobre a taxa de prenhez de novilhas Nelore inseminadas em tempo fixo. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 23, n. 3, p. 342-344, 1999.

GUIMARÃES, J.D.; GUIMARÃES, S.E.F.; SIQUEIRA, J.B. et al. Seleção e manejo reprodutivo de touros zebu. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p. 379-388, 2011 (supl. especial).

HEMSWORTH, P.H. Ethical stockmanship. **Australian Veterinary Journal**, v. 85, n. 5, p. 194-200, 2007.

KASTELIC, J.P.; THUNDATHIL, J.C. Breeding soundness evaluation and semen analysis for predicting bull fertility. **Reproduction of Domestic Animals**, v.43 (Supl. 2), p.368–373, 2008.

LAMOTHE-ZAVALA, C.; FREDRISKSSON, G.; KINDHAL, H. Reproductive performance of zebu cattle in Mexico: 1. Sexual behavior and seasonal influence on estrous cyclicity. **Theriogenology**, v. 36, p. 887-896, 1991.

- LARSON, J.L.; MILLER, D.J. Can relative spermatozoa galactosyltransferase activity be predictive of dairy bull fertility? **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 2473–2479, 2000.
- LOWMAN, B.G.; SCOTT, N.A.; SCOTT, P.R. An evaluation of some breeding management options in beef herds in the United Kingdom. **Veterinary Record**, v. 135, p. 9-12, 1994.
- MAIO, J.R.G.; SALES, J.N.S.; CREPALDI, G.A. et al. Perfil plasmático de progesterona e taxa de prenhez à IATF de fêmeas bovinas tratadas com Sincrogest (Dispositivo Intravaginal de Progesterona). **A Hora Veterinária**, v. 165, p. 41-44, 2008.
- MARTINEZ, M.F.; KASTELIC, J.P.; ADAMS, G.P. et al. The use of progestins in regimens for fixed-time artificial insemination in beef cattle. **Theriogenology**, v. 57, p. 1049-1059, 2002.
- MARTINEZ, M.F.; KASTELIC, J.P.; BÓ G.A. et al. Effects of oestradiol and some of this esters on gonadotrophin releasing and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 86, p. 37-52, 2005.
- MARTINS, C.M.; CASTRICINI, E.S.C.; SÁ FILHO, M.F. et al. Dinâmica folicular de vacas Nelore tratadas com Cipionato de estradiol ou benzoato de estradiol em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, p. 285, 2005.
- MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/bovinos-e-bubalinos>, acessado em: 27 de novembro de 2012.
- MONTIEL, F.; AHUJA, C. Body condition and suckling as factors influencing the duration of postpartum anestrous in cattle: A review. **Animal Reproduction Science**. V. 85, p. 1-26, 2005.
- PETRUNKINA, A.M.; WABERSKI, D.; GUNZEL-APEL, A.R. et al. Determinants of sperm quality and fertility in domestic species. **Reproduction**, v. 134, p. 3–17, 2007.
- PICKETT, B.W.; AMANN, R.P. Cryopreservation of semen. In: MCKINNON, A.O., VOSS, J.L. **Equine Reproduction**. 1.0ed.: Lea e Febiger, Philadelphia. 1993.p. 769-789.
- PINHEIRO, O.L.; BARROS, C.M.; FIGUEIREDO, R.A. et al. Estrous behavior and the estrus-to-ovulation interval in Nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with prostaglandine F_{2α} or norgestomet and estradiol valerate. **Theriogenology**, v. 49, p. 667-681, 1998.
- PURSLEY, J.R.; MEE, M.O.; WILTBANK, M.C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF_{2α} and GnRH. **Theriogenology**, v. 44, p. 915-923, 1995.

- REIS, R.A.; RUGGIERI, A.C.; CASAGRANDE, D.R. et al. Suplementação da dieta de bovinos de corte como estratégia do manejo das pastagens. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p. 147-159, 2009 (supl. especial).
- RIVIER, C.; RIVEST, S. Effects of stress on the activity of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis: peripheral and central mechanisms. **Biology of Reproduction**, v. 45, p. 523-532, 1991.
- RODRIGUEZ-MARTINEZ, H. State of the art in farm animal sperm evaluation. **Reproductive Fertility Development**, v. 19, p. 91–101, 2007.
- RUSSI, L.S. **Recursos humanos na inseminação artificial em bovinos de corte**. 2008. 74 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2008.
- RUSSI, L.S.; COSTA E SILVA, E.V.; ZÚCCARI, C.E.S.N. Importância da capacitação de recursos humanos em programas de inseminação artificial. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.36, p.20-25, 2009.
- RUSSI, L.S.; COSTA E SILVA, E.V.; ZÚCCARI, C.E.S.N. et al. Human resources in artificial insemination of beef cattle: profile of managers and inseminators. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 1464-1470, 2010.
- SÁ FILHO, O.G.; VASCONCELOS, J.L.M. Emprego de dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR) previamente utilizado por 27 dias em protocolo de sincronização da ovulação em vacas Nelore pós-parto. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 36, p. 615, 2008.
- SCHILLO, K.K. Effects of dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep. **Journal of Animal Science**, v.70, p.1271-1282, 1992.
- SIMMONS, L.W. The evolution of polyandry: sperm competition, sperm selection, and offspring viability. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 36, p. 125–146, 2005.
- STOCK, J.; FORTUNE, J.E. Ovarian follicular dominance in cattle: relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. **Endocrinology**, v. 132, p. 1108-1116, 1993.
- USDA - United States Department of Agriculture. Disponível em: <http://www.fas.usda.gov/http/CP2012/Beef-2012-Final.pdf>, acessado em: 28 de novembro de 2012.
- VIEIRA, A.; LOBATO, J.F.P.; TORRES JUNIOR, R.A.A. et al. Fatores determinantes do desempenho reprodutivo de vacas Nelore na região dos cerrados do Brasil Central. **Revista Brasileira de Zootecnia**, (supl.) v.34, n.6, p.2408-2416, 2005.
- VISCARRA, J.A.; WETERMANN, R.P.; SPITZER, J.C. et al. Body condition at parturition and post-partum weight gain influence luteal activity and concentrations

of glucose, insulin and nonesterified fatty acids in plasma of primiparous beef cows. **Journal of Animal Science**, v. 76, p. 493-500, 1998.

WILTBANK, M.C.; GUMEN, A.; SARTORI, R. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. **Theriogenology**, v. 57, p. 21-52, 2002.

WILTBANK, M.C. Nuevos conceptos sobre los efectos de la nutrición en la reproducción. In: Simposio Internacional de Reproducción Animal, 5, 2003, Córdoba. **Anais...** Córdoba, p. 145-150, 2003.

**Inseminação Artificial em Tempo Fixo em Vacas Multíparas com Sêmen
Heterospérmico**

***Fixed-Time Artificial Insemination in Multiparous Cows with Heterospermic
Semen***

Resumo: Objetivou-se comparar o uso de sêmen convencional e heterospérmico dos mesmos touros, o tipo e o número de usos do implante de progesterona, o efeito de fazenda e de inseminador e o escore de condição corporal sobre a taxa de gestação em programas de inseminação artificial em tempo fixo. O trabalho foi realizado em quatro fazendas localizadas no Estado de Mato Grosso do Sul, na estação de monta de 2009/2010. Todos os animais utilizados foram submetidos a exame ginecológico prévio e tiveram o seu escore de condição corporal avaliado. O sêmen foi submetido a avaliação da morfologia espermática e ao teste de termo resistência. Não foram observadas diferenças do tipo e do número de usos dos implantes de progesterona, do escore de condição corporal e do tipo de sêmen (convencional x heterospérmico) sobre a taxa de gestação ($p>0,05$). Porém houve diferença ($p<0,05$) entre fazendas e inseminadores.

Palavras-chave: espermatozoide, Nelore, taxa de gestação

***Fixed-Time Artificial Insemination in Mutiparous Cows with Heterospermic
Semen***

Abstract: The present study aimed to compare conventional and heterospermic semen of the same bulls, type and number of times used of progesterone implants, the herd and inseminator effect and the body condition score on pregnancy rate in fixed time artificial insemination (IATF) programs. The study was conducted in four farms located at Mato Grosso do Sul State, in the breeding season of 2009/2010. All animals were previously submitted to a gynecological examination and their body condition score were assessed. The semen was submitted to a morphological evaluation and to the thermal resistance tests. There were no differences in the type and number of uses of progesterone implants, body condition score and semen type

(conventional x heterospermic) on the pregnancy rate ($p>0.05$). However there was difference ($p<0.05$) between herds and inseminators.

Keywords: Nelore, pregnancy rate, spermatozoa

INTRODUÇÃO

O Brasil destaca-se entre os maiores produtores e exportadores de carne bovina do mundo (USDA, 2012). Porém, a produtividade média do rebanho brasileiro, quando comparada com países da faixa tropical, com a Austrália, fica aquém do desejado. Fatores como forragens de baixa qualidade, deficiência nutricional e alta incidência de doenças infecciosas e parasitárias levam a índices zootécnicos aquém do real potencial da atividade, sendo as falhas na reprodução, como intervalo de partos e taxa de concepção, um dos fatores mais importantes que limitam o desempenho da pecuária de corte brasileira.

Baruselli et al. (2004) reportaram que a utilização de Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) em Nelore no Brasil mostrou-se eficiente para melhorar os índices reprodutivos do rebanho, principalmente porque o uso de alguns fármacos nos protocolos de sincronização de cio melhorou a taxa de ovulação, mesmo em animais em anestro e/ou com deficiência nutricional.

Um dos fatores a ser levado em consideração em programas de IATF é o sêmen a ser utilizado, pois, se for de má qualidade pode comprometer os resultados de produtividade, pondo a perder os esforços empreendidos na preparação do rebanho e no investimento na tecnologia (Severo, 2009).

Há diferenças na fertilidade dos espermatozoides entre indivíduos, as quais podem ou não serem minimizadas com o aumento do número de células por dose (ARRUDA et al., 2004). Beatty et al. (1969) sugeriram que a fertilidade dos espermatozoides de um indivíduo poderia ser melhorada ao ser incluído em uma mistura seminal, e que o uso de sêmen heterospermico poderia aumentar os índices reprodutivos em rebanhos comerciais. Azmal et al. (2004) relataram que não encontraram diferenças significativas quando compararam a motilidade e a porcentagem de células sem patologia de sêmen homospermico e heterospermico

(HT) no dia da coleta. Porém, quando os mesmos foram mantidos refrigerados a 4°C, por três dias, a mistura seminal apresentou valores maiores no segundo e no terceiro dia pós-coleta, quando comparado ao sêmen convencional.

O objetivo deste trabalho foi comparar o uso de sêmen homospérmico e heterospérmico dos mesmos touros, o tipo e o número de vezes de uso do implante de progesterona, o efeito de fazenda e de inseminador e o escore de condição corporal sobre a taxa de gestação ao final de programas de IATF.

MATERIAL E MÉTODOS

Os programas de IATF foram executados em quatro fazendas localizadas no Estado de Mato Grosso do Sul, na estação de monta 2009/2010. A fazenda 1 (n = 189) localiza-se na planície pantaneira (Pantanal do Rio Negro) e as demais fazendas (2, 3 e 4; n = 47, 139 e 84, respectivamente) localizam-se na região do planalto em municípios contíguos à cidade de Campo Grande. Todas as fêmeas utilizadas foram submetidas a exame ginecológico prévio com auxílio de aparelho de ultrassonografia. Deste modo, permaneceram nos programas apenas animais em boas condições reprodutivas e que estavam, no momento da sincronização, com no mínimo 30 e no máximo 65 dias de pós-parto. Esses animais encontravam-se a pasto, com sal *ad libitum* e sem suplementação proteica ou energética.

O escore de condição corporal (ECC) das vacas foi avaliado pelo mesmo técnico, em todas as fazendas e foram usados apenas animais com ECC superior a 2, conforme a escala de 1 (magra) a 5 (obesa) (Wildman et al., 1982).

Para a realização da IATF adquiriu-se sêmen convencional (touros A, B e C) e heterospérmico (sêmen dos touros A+B+C, envasado na mesma palheta) de reprodutores da raça Nelore provenientes da mesma central de coleta. As partidas de sêmen foram submetidas a teste de termo resistência por 3 horas a 37°C (Borges et al., 2011). Além deste, a morfologia espermática foi determinada pela contagem de 200 células, seguindo os critérios de classificação proposto por Blom (1973). Foram utilizadas apenas as partidas consideradas aprovadas, com base nos padrões preconizados pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (Henry & Neves, 1998) sendo os resultados apresentados na Tab. 1.

Tabela 1. Avaliação das partidas de sêmen homo e heterospérmico utilizadas em programas de IATF.

Touro	Raça	Mot(%) / Vig(1-5) ¹	Nº Sptz ²	TTR ³	% normais ⁴	Obs.
A	Nelore	40/4	14 x 10 ⁶	30%	87	Apto
B	Nelore	35/4	12 x 10 ⁶	25%	83	Apto
C	Nelore	40/4	14 x 10 ⁶	35%	91	Apto
HT ⁵	Nelore	35/4	14 x 10 ⁶	30%	90	Apto

¹ motilidade e vigor espermático pós-descongelamento; ² número de espermatozoides viáveis por dose; ³ motilidade (%) / vigor espermático (1-5) após teste de termo resistência por três horas a 37°C; ⁴ morfologia espermática; ⁵ sêmen heterospérmico (A + B + C)

A sincronização de ovulação foi realizada pela mesma equipe em todas as fazendas e o protocolo utilizado para todos os animais foi o seguinte:

- Dia 0: aplicação intramuscular (IM) de 2 mg de Benzoato de Estradiol (BE) (Estrogin[®], Farmavet, Brasil) e introdução de implante intravaginal de progesterona (CIDR[®], Pfizer Saúde Animal, Brasil ou Sincrogest[®], Ouro Fino Saúde Animal, Brasil), os implantes foram utilizados por três vezes;
- Dia 7: aplicação IM de 12,5 mg de Dinoprost (PGF2α) (Lutalyse[®], Pfizer Saúde Animal, Brasil);
- Dia 9: retirada do implante de progesterona, aplicação IM de 300 UI de Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG) (Novormon[®], MSD Saúde Animal, Brasil) e aplicação IM de 0,6 mg de Cipionato de Estradiol (CE) (E.C.P.[®], Pfizer Saúde Animal, Brasil);
- Dia 11: inseminação artificial sem observação do cio.

Foram utilizados oito inseminadores, onde alguns participaram do programa em mais de uma fazenda e outros apenas na fazenda em que trabalham. Cada um inseminou no máximo 20 animais por vez, quando era substituído por outro. A utilização do sêmen, convencional ou heterospérmico, por vaca foi aleatória, conforme a ordem de entrada do animal no tronco de contenção, totalizando cinco animais inseminados com cada touro (A, B e C) e cinco com o sêmen HT.

O diagnóstico de gestação foi realizado via palpação transretal com auxílio de aparelho de ultrassonografia (Mindray®, modelo DP-2200Vet com transdutor linear de 5,0 Mhz), 35 dias após a inseminação.

Os resultados obtidos foram submetidos a um teste de dispersão de frequência (Qui-quadrado), por meio do pacote Bioestat® e o nível de significância adotado foi de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Fig. 1 podem-se observar as diferenças nas taxas de gestação obtidas nas fazendas, que variaram de 38,62 a 70,21%. As taxas obtidas entre as fazendas 1 e 3 não diferiram entre si ($p>0,05$), entretanto, foram mais baixas quando comparadas com àquelas das fazendas 2 e 4 ($p<0,05$), que não diferiram entre si ($p>0,05$).

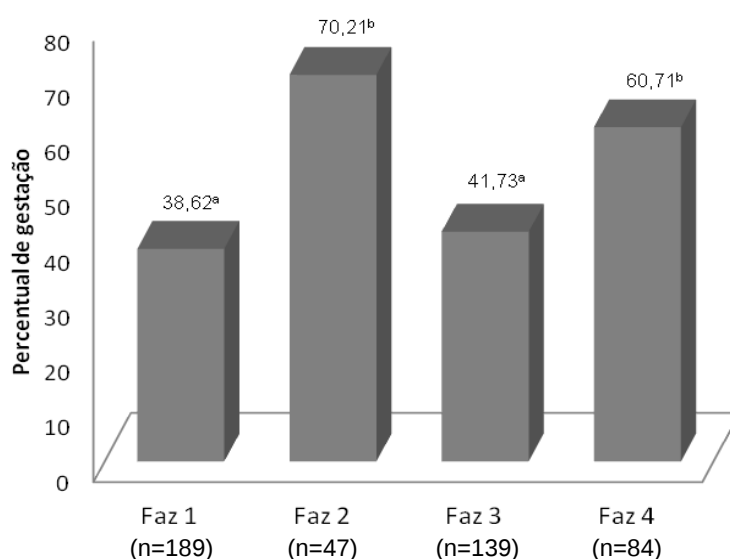


Figura 1. Taxa de gestação obtida em vacas multíparas da raça Nelore submetidas a programa de IATF.

Esse efeito de propriedade provavelmente se deva às condições de manejo. As duas fazendas com taxas gestacionais inferiores apresentavam uma maior área e os lotes percorriam uma maior distância para chegarem ao curral, além de o manejo

com os animais não ser o ideal para um programa de IATF, como foi apresentado nas propriedades 2 e 4.

O efeito do inseminador também foi verificado sobre as taxas de gestação ($p < 0,05$). Na Tab. 2 estão numeradas as diferenças entre os índices obtidos pelos oito inseminadores que participaram do experimento.

Tabela 2. Relação do número de vacas prenhes por inseminador em programa de IATF nas fazendas.

Fazenda	Inseminador	Relação	Total
1 ^a	1	59,78% (55/92) ^a	38,62% (73/189) ^a
	2	13,56% (8/59) ^b	
	3	26,32% (10/38) ^b	
2 ^b	1	74,07% (20/27) ^a	70,21% (33/47) ^b
	3	65,00% (13/20) ^a	
3 ^a	1	42,86% (21/49) ^a	41,73% (58/139) ^a
	3	41,94% (13/31) ^a	
	6	10,00% (2/20) ^b	
	7	52,63% (10/19) ^a	
	8	60,00% (12/20) ^a	
4 ^b	1	57,14% (16/28) ^a	60,71% (51/84) ^b
	4	68,42% (13/19) ^a	
	5	59,46% (22/37) ^a	

Médias seguidas pela mesma letra em cada fazenda não diferiram entre si ($p > 0,05$) pelo teste de Qui-Quadrado.

Ao analisar os resultados da Tab. 2 pode-se ver que o desempenho dos inseminadores influenciou o resultado de prenhez nas fazendas. Na fazenda 1, em que foi observada a menor taxa de gestação, os inseminadores 2 e 3 afetaram o resultado em comparação ao inseminador 1 ($p < 0,05$). Porém, a taxa de prenhez do inseminador 3 nas outras fazendas não diferiu dos demais inseminadores ($p > 0,05$). Na fazenda 3, o baixo índice observado foi afetado pelo resultado obtido pelo inseminador 6.

Alguns experimentos mostraram que fatores intrínsecos ao ser humano, como habilidade, resistência muscular e interação homem-animal, podem afetar os resultados na IATF, assim como a capacitação de recursos humanos, qualidade de

vida e relacionamento interpessoal são considerados itens importantes para o desempenho de inseminadores em vários estudos (Russi et al., 2009; Russi et al., 2010). Neste caso, os dois inseminadores, 2 e 6, que apresentaram resultados inferiores eram inexperientes e participaram pela primeira vez de um programa de IATF, o que provavelmente interferiu em seus desempenhos.

Apesar da diferença na taxa de gestação entre fazendas, não houve efeito do sêmen utilizado ($p>0,05$). As taxas de gestação obtidas com o sêmen convencional e com o sêmen heterospérmico estão sumariados na Tab. 3.

Tabela 3. Taxas de gestação em vacas da raça Nelore inseminadas em tempo fixo com sêmen heterospérmico (HT) ou convencional nas diferentes fazendas.

Fazendas	HT*	Touro A	Touro B	Touro C
1	50,0 (24/48) ^a	27,7 (13/47) ^a	36,2 (17/47) ^a	40,4 (19/47) ^a
2	66,7 (08/12) ^a	75,0 (09/12) ^a	45,5 (05/11) ^a	91,7 (11/12) ^a
3	40,0 (14/35) ^a	50,0 (17/34) ^a	35,3 (12/34) ^a	41,7 (15/36) ^a
4	70,8 (17/24) ^a	76,2 (16/21) ^a	36,8 (07/19) ^a	55,0 (11/20) ^a

Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferiram ($p>0,05$) pelo teste de Qui-Quadrado. * HT = sêmen heterospérmico dos touros (A + B + C).

A taxa de prenhez obtida com o uso do sêmen heterospérmico não diferiu do sêmen convencional ($p>0,05$), o que contrastou com o resultado obtido por Nelson et al. (1975). Esses autores relataram maior taxa de gestação nos grupos que utilizaram mistura seminal de três touros em comparação aos grupos que receberam mistura seminal de dois touros ou sêmen convencional. Kushner (1954) em sua revisão do uso de sêmen heterospérmico reportou um aumento na taxa de concepção quando comparado ao sêmen convencional.

Por outro lado, em um experimento em que as vacas foram inseminadas com uma mistura seminal de quatro touros a fresco, não foi observado diferença na proporção de descendentes de cada touro (Stewart et al., 1974). Porém, quando essa mesma mistura foi criopreservada e posteriormente utilizada em programa de inseminação artificial, houve diferença ($p<0,01$) na relação de descendentes de cada touro, evidenciando que alguns animais têm um decréscimo na fertilidade quando

seu sêmen é congelado. Essa diferença entre sêmen heterospérmico e convencional congelados, provavelmente se deu porque os espermatozoides dos touros que são mais resistentes ao congelamento, quando utilizados em uma mistura seminal, poderiam compensar os espermatozoides dos touros que são menos resistentes à criopreservação (Azmal et al., 2004). Estudos relataram que os espermatozoides em uma mistura seminal nadam mais rápido do que nadariam em seus ejaculados individuais (Moore et al., 2002; Fisher & Hoekstra, 2010).

Outros autores não verificaram diferença na qualidade do sêmen convencional quando comparado ao sêmen heterospérmico (Dott & Walton, 1958), assim como no presente experimento.

Neste estudo não houve diferença ($p>0,05$) nas taxas de prenhez entre os touros (A, B e C). Esse fato pode ter influenciado para que não houvesse diferença na taxa de gestação dos animais inseminados com o sêmen HT (A + B + C), já que a fertilidade do sêmen heterospérmico está diretamente relacionada com a taxa de concepção dos homospérmicos (Beatty et al., 1969; Dziuk, 1996).

Além desses resultados não foram detectadas diferenças para taxa de prenhez em relação ao escore de condição corporal ($p>0,05$) como mostram os resultados da Tab. 4.

Tabela 4. Média dos escores de condição corporal e taxa de gestação de vacas multíparas da raça Nelore submetidas a programa de IATF por fazenda.

	Fazendas				Total
	1	2	3	4	
ECC ($\bar{X} \pm s$)	$3,2 \pm 0,51^a$	$2,6 \pm 0,29^a$	$3,4 \pm 0,32^a$	$3,5 \pm 0,56^a$	$3,2 \pm 0,52$
% prenhez	38,62 ^a	70,21 ^b	41,73 ^a	60,71 ^b	46,84
	(73/189)	(33/47)	(58/139)	(51/84)	(215/459)

Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferiram significativamente ($p>0,05$) pelo teste de Qui-Quadrado.

O ECC tem relação positiva com a gordura corporal e com as concentrações de hormônio luteinizante (LH) (Schillo, 1992), o que melhora a taxa de ovulação e, consequentemente, a taxa de gestação em programas de IATF (Baruselli et al., 2004).

Vários autores evidenciaram a importância do ECC na reprodução animal e o seu efeito na taxa de gestação (Osoro & Wright, 1992; Vieira et al., 2005). Ao avaliar dados retrospectivos na literatura Sá Filho et al. (2009) verificaram efeito positivo entre o ECC e a taxa de prenhez em programas de IATF.

O resultado obtido para taxa de prenhez no presente experimento corrobora com trabalhos de outros autores (Lamb et al., 2001; Gottschal et al., 2009). Esse resultado pode ter sido em função do uso de eCG no protocolo de sincronização, que por aumentar a frequência e a amplitude dos pulsos de LH, contribui para o incremento da taxa de gestação em vacas com baixo ECC ou em anestro (Baruselli et al., 2004).

O número de vezes de uso (uma, duas ou três) e o tipo do implante de progesterona utilizado (SINCROGEST® e CIDR®) não apresentaram diferença significativa sobre a taxa de gestação ($p>0,05$). Resultados similares foram obtidos por outros autores quando compararam o efeito de implantes novos e usados, por duas ou três vezes, sobre as taxas de prenhez de programas de IATF (Vale et al., 2011; Melo et al. 2012).

CONCLUSÕES

A taxa de gestação das vacas multíparas inseminadas em tempo fixo não foi influenciada pelo uso de sêmen heterospérmico, mas é influenciada por diferentes fazendas e inseminadores.

REFERÊNCIAS

- ARRUDA, R.P.; COLEGHINI, E.C.C.; ANDRADE, A.F.C. et al. Importância da qualidade do sêmen em programas de IATF e TETF. In: 1º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, 2004, Londrina. **Anais... Biotecnologia da Reprodução em Bovinos**, 2004. v. 1. p. 166-179.
- AZMAL, S.A.; AMIN, M.R.; KHATUN, H. et al. Relative merits of homo and heterospermic bull semen in respect of preservation quality. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v.7, p.1908-1911, 2004.

- BARUSELLI, P.S.; REIS, E.L.; MARQUES, M.O. et al. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v.82-83, p.479-486, 2004.
- BEATTY, R.A.; BENNETT, G.H.; HALL, J.G. et al. An experiment with heterospermic insemination in cattle. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.19, p.491-502, 1969.
- BLOM, E. The ultrastructure of some characteristic sperm defects and a proposal for a new classification of the bull spermogram. **Nordisk Veterinær Medicin**. v.53, p.383-391, 1973.
- BORGES, J.C.; SILVA, M.R.; GUIMARÃES, J.D. et al. Membrana plasmática de espermatozoides bovinos: efeitos de metabólitos do oxigênio, antioxidantes e criopreservação. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.35, p.303-314, 2011.
- DIZIUK, P.J. Factors that influence the proportion of offspring sired by a male following heterospermic insemination. **Animal Reproduction Science**, v.43, p.65-88, 1996.
- DOTT, H.M.; WALTON, A. Motility and survival of spermatozoa in mixed semen from different bulls. **The Journal of Agricultural Science**, v.50, p.267-272, 1958.
- FISHER H.S.; HOEKSTRA H.E. Competition drives cooperation among related sperm of deer mice. **Nature**, v. 463, p. 801–803, 2010.
- GOTTSCHALL, C.S.; BITTENCOURT, H.; MATTOS, R. et al. Antecipação da aplicação de prostaglandina em programas de inseminação artificial em tempo fixo em vacas de corte. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.10, n.4, p.970-979, 2009.
- HENRY, M.; NEVES, J.P. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. CBRA, 2^a ed., Belo Horizonte, 49p., 1998.
- KUSHNER, K.F. The effect of heterospermic insemination in animals and its biological nature. **Biology Bulletin of the Academy Science of the USSR** (1), p.32-52, 1954.
- LAMB. G.C.; STEVENSON, J.S.; KESLER, D.J. et al. Inclusion of an intravaginal progesterone insert plus GnRH and prostaglandin F_{2α} for ovulation control in postpartum suckled beef cows. **Journal of Animal Science**, v.79, p.2253-2259, 2001.
- MELO, P.C.H.; VALE, W.G.; ERNANE, W. et al. Fixed timed artificial insemination (FTAI) through progestagen (CIDR) of 1st, 2nd, 3rd and 4th uses in bovine: II. Conception rate related to times of CIDR use, to the semen used, to artificial insemination technician and to farm management. **Livestock Research for Rural Development**, v.24(4), article 62, 2012.

- MOORE, H.; DVORAKOVA, K.; JENKINS, N.; BREED, W. Exceptional sperm cooperation in the wood mouse. **Nature**, v. 418, p. 174–177, 2002.
- NELSON, L.D.; PICKETT, B.W.; SEIDEL JR, G.E. Effect of heterospermic insemination on fertility of cattle. **Journal of Animal Science**, v.40, p.1124-1129, 1975.
- OSORO, K.; WRIGHT, I.A. The effect of body condition, live weight, breed, age, calf performance and calving date on reproductive performance of spring-calving beef cows. **Journal of Animal Science**, v.70, p.1661-1666, 1992.
- REVELL, S.G.; MRODE, R.A. An osmotic resistance test for bovine semen. **Animal Reproduction Science**, v.36, p.77-86, 1994.
- RUSSI, L.S.; COSTA E SILVA, E.V.; ZÚCCARI, C.E.S.N. Importância da capacitação de recursos humanos em programas de inseminação artificial. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.36, p.20-25, 2009.
- RUSSI, L.S.; COSTA E SILVA, E.V.; ZÚCCARI, C.E.S.N. et al. Impact of the quality of life of inseminators on the results of artificial insemination programs in beef cattle. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n. 7, p.1457-1463, 2010.
- SÁ FILHO, O.G.; MENEGHETTI, M.; PERES, R.F.G. et al. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: Strategies and factors affecting fertility. **Theriogenology**, v.72, p.210-218, 2009.
- SCHILLO, K.K. Effects of dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep. **Journal of Animal Science**, v.70, p.1271-1282, 1992.
- SEVERO, N.C. Influência da qualidade do sêmen bovino congelado sobre a fertilidade. **A Hora Veterinária**, Brasil Ano 28, nº 167, jan/fev 2009.
- STEWART, D.L.; SPOONER, R.L.; BENNETT, G.H. et al. A second experiment with heterospermic insemination in cattle. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.36, p.107–116, 1974.
- USDA - United States Department of Agriculture. Disponível em: <http://www.fas.usda.gov/http/CP2012/Beef-2012-Final.pdf>, acessado em: 28 de novembro de 2012.
- VALE, W.G.; MELO, P.C.H.; WALTER, E. et al. Fixed timed artificial insemination (FTAI) through the progesterone (CIDR) of 1st, 2nd, 3rd and 4th uses in bovine. I. Conception rate related to reproductive category, related to body condition scoring (BCS), related to calf withdrawal and use of eCG. **Livestock Research for Rural Development**, v.23(10), article 205, 2011.
- VIEIRA, A.; LOBATO, J.F.P.; TORRES JUNIOR, R.A.A. et al. Fatores determinantes do desempenho reprodutivo de vacas Nelore na região dos cerrados do Brasil Central. **Revista Brasileira de Zootecnia**, (supl.) v.34, n.6, p.2408-2416, 2005.

WILDMAN, E.E.; JONES, G.M.; WAGNER, P.E. et al. A dairy body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. **Journal of Dairy Science**, v.65(3), p.495-501, 1982.