

700716

Biblioteca - Unemat - PLA



00013943

636.082.453.5
048m
22.02

BIBLIOTECA UNEMAT 02	
Campus Universitário de Pontes e Lacerda-MT	
RG N.º	13943
Data	25 / 06 / 2009
☐ Compra ☒ Doação ☐ Permuta	

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

MIGRAÇÃO ESPERMÁTICA EM BOVINOS

Autora: Elieth Cândida de Oliveira
Orientador: Prof. Dr. Luiz Carlos Tadeu Capovilla

"Trabalho de Conclusão de Curso de graduação em Zootecnia, apresentado ao Departamento de Zootecnia da Universidade do Estado de Mato Grosso – *Campus* Universitário de Pontes e Lacerda, como parte das exigências para obtenção do título de BACHAREL EM ZOOTECNIA”.

PONTES E LACERDA
JULHO/2008

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

MIGRAÇÃO ESPERMÁTICA EM BOVINOS

Autora: Elieth Cândida de Oliveira
Orientador: Prof. Dr. Luiz Carlos Tadeu Capovilla

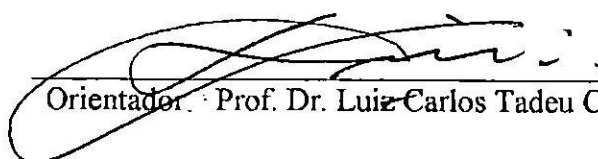
"Trabalho de Conclusão de Curso de graduação em Zootecnia, apresentado ao Departamento de Zootecnia da Universidade do Estado de Mato Grosso – *Campus* Universitário de Pontes e Lacerda, como parte das exigências para obtenção do título de BACHAREL EM ZOOTECNIA”.

PONTES E LACERDA
JULHO/2008

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

MIGRAÇÃO ESPERMÁTICA EM BOVINOS

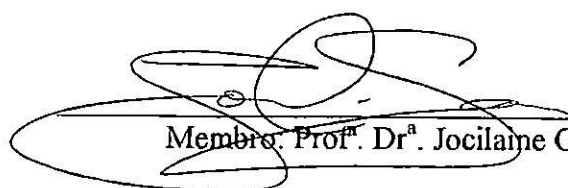
Autor (a): Elieth Candida de Oliveira



Orientador: Prof. Dr. Luiz Carlos Tadeu Capovilla



Membro: Prof. Dr. Alexandre Agostinho Mexia



Membro: Prof.ª Dr.ª Jocilaine Garcia

PONTES E LACERDA
JULHO/2008

Jamais desanime

Embora sua dor pareça insuportável e sem remédio,
ela há de terminar,
e a alegria voltará a brilhar em seu coração.
Não há noite eterna à qual não suceda a luz de um dia radiante.
Dos sofrimentos passados,
conservamos apenas uma lembrança quase apagada.
Assim acontecerá amanhã com os sofrimentos de hoje.
Entregue tudo ao tempo, que, com sua mão compassiva,
balsamizará todas as suas dores.

Autor: Luiz Carlos Pastorino.

A minha família, a qual sempre me incentivou a buscar
o aperfeiçoamento profissional.

À Domerviro Gomes de Oliveira, meu pai,
por todo carinho, e por acreditar e confiar em mim;

À Luzeni Cândida de Oliveira, minha mãe,
por sua dedicação e por ser um exemplo de vida a ser seguido;

Aos meus irmãos Elaine Chistina Cândida de Oliveira,
Jéssica Cândida de Oliveira e Matheus Henrique de Oliveira,
por nossa união como irmãos.

Ao meu cunhado Ronaldo da Mota Vaz,
pela sua atenção a todas as pessoas.

Aos meus avós, por sua humildade e honestidade.

À minha amiga Ana Caroline Dahmer.

À minha tia Sonilda Cândida.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade do Estado de Mato Grosso, por ter possibilitado a realização deste trabalho.

Ao Departamento de Zootecnia e aos professores do Curso de Zootecnia, pelos valiosos ensinamentos.

Aos professores Dr. Luiz Carlos Tadeu Capovilla, Dr. Alexandre Agostinho Mexia, Dr^a. Jocilaine Garcia, por terem participado intensamente neste trabalho, com paciência e dedicação, a eles sou muito grata.

Aos demais professores do Departamento de Zootecnia, Adriana F. Barros Mexia, Giulianna Zilocche Miguel, Juliano Valério Geron, Maria Aparecida Pierangelli, Maurício Arantes, Rodrigo Froede Ruppim, pelos ensinamentos durante a vida acadêmica.

Aos Médicos Veterinários Douglas César Ruivo, Carlos Eduardo Coelho e Igor Almeida, por terem me auxiliado durante o experimento.

A Luiz Paulo Rigolon, por ter me cedido material auxiliando na elaboração deste trabalho.

Aos funcionários da Fazenda São Francisco, local onde foi realizado este experimento, em especial ao Senhor Domerviro Gomes de Oliveira.

Aos meus amigos Cleverson Oliveira, Daiane Barros, Deivison Novaes, Juliane Martini, Keuciane Saibel, Lílian Chambó, Luiz Durvalino, Mariana Lisbôa, Maria Beatriz, Matuzalem Rodrigues, Patrícia Leal, Pablo Gomes, Rômulo Costa, Whevergton dos Santos e demais colegas, pelo companheirismo, amizade, e lealdade nos momentos mais difíceis.

BIOGRAFIA DA AUTORA

ELIETH CÂNDIDA DE OLIVEIRA, filha de Domerviro Gomes de Oliveira e Luzeni Cândida de Oliveira, nasceu em Colorado do Oeste – Rondônia, no dia 27 de abril de 1986.

Em Dezembro de 2008, concluirá o Curso de Zootecnia, pela Universidade do Estado de Mato Grosso *campus* Universitário de Pontes e Lacerda.

No mês de Julho de 2008, submeteu-se à banca examinadora para defesa do Trabalho de Conclusão de Curso.

SUMÁRIO

Resumo.	x
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 Sistema reprodutivo feminino	3
2.1.1 Ovários.....	3
2.1.2 Tubas uterinas	4
2.1.3 Útero	4
2.1.4 Cérvix uterina	5
2.1.5 Vagina	6
2.1.6 Vestíbulo e Vulva	6
2.2 O ciclo estral em fêmeas bovinas	7
2.2.1 Contrações do trato reprodutivo durante o ciclo estral	10
2.3 Transporte dos espermatozoides no trato reprodutivo feminino	11
2.4 Capacitação espermática	14
2.5 Local de deposição do sêmen e sua influência na taxa de fertilidade	15
3. MATERIAL E MÉTODOS	17
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
5. CONCLUSÃO	26
6. LITERATURA CITADA	26

MIGRAÇÃO ESPERMÁTICA EM BOVINOS

Resumo - A Inseminação Artificial (IA) é uma biotecnologia fundamental para o melhoramento genético do rebanho bovino. Entretanto, uma das maiores causas da infertilidade associada à falhas na IA e repetição do cio refere-se ao local de deposição correta do sêmen no corpo uterino. O objetivo deste trabalho foi avaliar a possibilidade de haver migração espermática entre os cornos uterinos, confirmando ou não a importância do local exato da deposição do sêmen. Foram realizados dois experimentos, totalizando 10 vacas; no primeiro experimento foram utilizadas 6 vacas, sendo 3 inseminadas no corno uterino direito e 3 no esquerdo, no segundo experimento foram utilizadas 4 vacas e sendo empregado o mesmo procedimento do primeiro. Após 7 dias da IA, em ambos os experimentos, os animais foram submetidas a coleta não cirúrgica de embriões, recolhidos nos cornos uterinos separadamente com o propósito de verificar se houve migração espermática, através da fertilização dos ovócitos contidos no corno contralateral à IA. No presente trabalho verificou-se que houve migração espermática, em 50% das vacas utilizadas, sendo a maioria das estruturas encontradas no corno uterino esquerdo (57%), tendo relação nos experimento um e dois, de 62:38 e 52:38 (esquerdo:direito), respectivamente.

Palavras-chave: embrião, fertilidade, inseminação artificial, reprodução

1. INTRODUÇÃO

Há uma grande expectativa de crescimento da pecuária de corte no Brasil, não só pelo aumento do mercado nacional, mas também pela inserção de nosso país no mercado mundial da carne bovina. No entanto, é fundamental que se elevem os índices de produção e a eficiência reprodutiva do rebanho, para garantir maior retorno econômico aos produtores (Barros & Ereno, 2004).

O melhoramento genético, baseado na seleção de indivíduos, possibilita o aumento da produtividade da carne e do leite. Assim, a eficiente multiplicação de animais superiores por biotécnicas da reprodução proporciona maior retorno econômico à atividade (Baruselli & Seneda, 2006).

A Inseminação Artificial (IA) é uma biotecnologia fundamental para o melhoramento genético do rebanho bovino. Um dos principais fatores que determinam o sucesso de um programa de IA é a detecção de cio, o qual necessita de técnicos treinados e aperfeiçoados (Barros, 2008).

Gwazdauskas et al. (1980) relacionam a fertilidade à IA, podendo esta ser aumentada quando executa-se a IA somente em vacas em estro, utilizando-se adequados procedimentos na descongelação do sêmen, depositando-se o sêmen no útero, massageando-se o útero e o clitóris após a inseminação e quando as vacas inseminadas são mantidas a temperaturas abaixo de 23°C no dia seguinte à inseminação.

Vanzin (2002) declara que por ser a técnica de inseminação artificial um método de reprodução totalmente realizado pela mão do homem, há a necessidade de adotar-se meios rigorosamente corretos, além do que, a orientação e a assistência técnica são condições indispensáveis para qualquer programa de inseminação artificial.

Diniz (1996) questiona o porquê das falhas das IAs, destacando três como os de maior importância, em termos de rebanho: vacas não aptas à reprodução; sêmen infértil e técnica usada na IA. As falhas técnicas mais frequentes podem ser enumeradas pela observação ineficiente do estro, pelo método de descongelação do sêmen, pelo local de deposição do sêmen no aparelho reprodutivo da fêmea e pela falta de higiene.

O termo migração espermática refere-se à migração dos espermatozoides do local que foi inseminado ou em monta natural, até o local onde ocorre a fertilização. Esta migração está diretamente relacionada com as taxas de prenhez (Lopez-Gatius, 1996),

Em função desses fatores apresentados e como há poucos estudos relacionados à migração espermática, o presente estudo objetivou avaliar a possibilidade de haver migração espermática entre os cornos uterinos, confirmando a importância ou não do local exato da deposição do sêmen, com intuito de amortizar possíveis perdas relacionadas a técnicas empregadas durante este processo.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Sistema reprodutivo feminino

O sistema genital da fêmea está localizado na cavidade pélvica sendo delimitado cranialmente pelos ossos do íleo, caudalmente pelos ísquios e os limites superiores e inferiores estabelecidos pelos ossos do sacro e da sínfise pélvica, respectivamente (Souza, 2001).

Os órgãos reprodutivos femininos compõem-se de ovários, tubas uterinas, útero, cérvix uterina, vagina, vestibulo e vulva (Figura 1), cada uma com suas respectivas funções (Hafez, 1995).

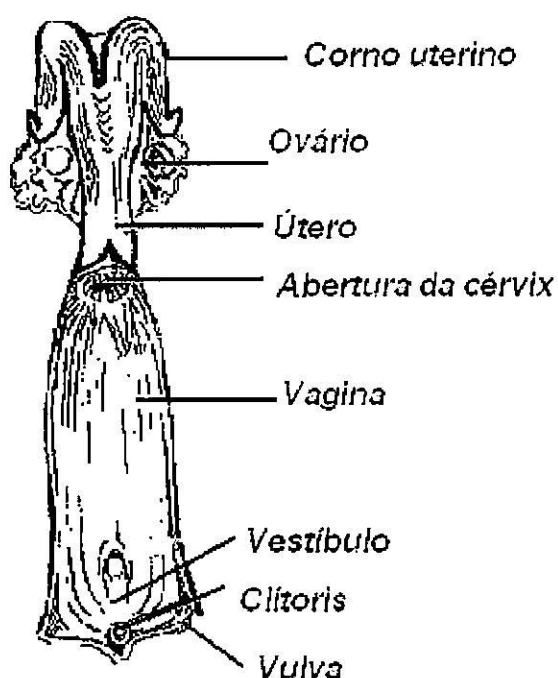


Figura 1. Órgãos genitais femininos. Fonte: Adaptado de Hafez (1995).

2.1.1 Ovários

É um órgão par de forma variável encontrado dorsalmente na cavidade abdominal próximo ao bordo pélvico apresentando função celular e endócrina.

Apresenta uma parte cortical externa com estruturas funcionais tais como folículos, corpo lúteo e corpo hemorrágico e estruturas vestigiais tais como o *corpus fibrosum* e *corpus albicans* (Moraes, 2001).

De acordo com Valle (1991), os ovários quando atuam como glândula endócrina, produzem os hormônios esteróides, denominados estradiol e progesterona. O estradiol é produzido pelos folículos em desenvolvimento, e a progesterona pelo corpo lúteo.

Segundo Kolb (1987), os ovários apresentam três funções principais, a formação dos ovócitos capazes de fecundação, formação de hormônios do cio (estrógeno) e a formação dos corpos lúteos que secretam a progesterona.

2.1.2 Tubas uterinas

São tubos pares convolutos que conduzem os óvulos de cada ovário para o respectivo corno do útero e são o local comum de fertilização dos óvulos pelos espermatozóides. A parte da tuba uterina adjacente ao ovário é ampliada e forma uma estrutura semelhante a um funil denominada infundíbulo. Este parece exercer papel ativo na ovulação, pelo menos o de envolver parcial ou completamente o ovário e dirigir o óvulo para a tuba uterina (Frandsen et al., 2005).

2.1.3 Útero

O útero é o órgão central para a reprodução, altamente capacitado e adaptado a reconhecer e nutrir o produto da fertilização, desde a implantação até o parto. Apresenta uma série de funções, que são essenciais para a reprodução, sendo as principais; transporte e capacitação de espermatozóides durante o percurso até a tuba uterina; favorecimento do desenvolvimento inicial do embrião, sua implantação e crescimento do feto durante a gestação; contrações durante o parto; controle da função luteal,

mediante mecanismos luteolíticos causados pela prostaglandina $F_2\alpha$ ($PGF_2\alpha$), produzindo pelas células endometriais, provocando a regressão luteal (Martin, 2003).

2.1.4 Cérvix uterina

É uma porção muscular, de paredes espessas e rígidas, tendo como principal função proteger o feto contra os agentes do meio externo, produzindo, sob a ação da progesterona, uma secreção gelatinosa que forma o tampão mucoso, atua também como seletor de espermatozoides através das secreções que surgem durante o cio (Moraes, 2000).

O muco cervical consiste de macromoléculas de mucina de origem epitelial, que são compostas de glicoproteínas contendo 25% de aminoácidos e 75% de carboidratos. As modificações cíclicas qualitativas do muco cervical durante o ciclo estral e as variações cíclicas na disposição e viscosidade destas macromoléculas provocam alterações periódicas na penetrabilidade dos espermatozoides no canal cervical. Sob a influência dos estrógenos as macromoléculas de glicoproteínas do muco são de tal modo orientados que o espaço entre elas medem de 2 a 5μ . Na fase luteínica, os espaços da rede de macromoléculas tornam-se cada vez menores. Assim, durante o cio e a ovulação, o grande tamanho das malhas, permite o transporte de espermatozoides através da rede de filamentos e do canal cervical (Hafez, 1995).

Para Valle (1991), a liquefação desse tampão mucoso e a dilatação da cérvix uterina ocorrem durante o cio, permitindo assim a passagem do ejaculado para o útero e a penetração da pipeta de inseminação. Convém lembrar que a cérvix é o ponto de transição entre o meio semi-estéril do útero e a região freqüentemente contaminada da vagina.

2.1.5 Vagina

A vagina é porção do canal do parto localizada no interior da pelve, entre o útero (cranialmente) e a vulva (caudalmente). A vagina atua como uma bainha para o pênis do macho durante a cópula. Ela é delimitada inteiramente por epitélio estratificado escamoso, que é glandular (Santos & Ferrazzoli, 1999).

Existem diferenças interespecíficas nas alterações vaginais durante o ciclo estral, que provavelmente refletem diferentes níveis de secreção de estrógeno e progesterona e mesmo de gonadotrofinas. As contrações vaginais representam importante papel nas respostas psíquicossexuais e possivelmente no transporte espermático. A contração da vagina, útero e trompa é ativada pelo fluido secretado na vagina durante o estímulo pré-coital (Hafez, 1995).

O pH da secreção vaginal não é favorável aos espermatozóides. Uma complexa interação do muco cervical, da secreção vaginal e do plasma seminal induz um sistema tampão que protege os espermatozóides até que eles sejam transportados através de micelas do muco cervical (Hafez, 1995).

2.1.6 Vestíbulo e Vulva

Vestíbulo é a parte do trato reprodutivo entre a vagina e a genitália externa. A transição entre vagina e vestíbulo é demarcada pelo óstio externo da uretra, sendo então o vestíbulo funcionalmente comum aos tratos urinário e reprodutivo. A vulva é a genitália externa da fêmea. Inclui lábios direito e esquerdo, que se encontram na linha média dorsalmente e, na porção ventral, nas comissuras dorsal e ventral, respectivamente. A comissura ventral é quase sempre um pouco pendulosa e esconde o clitóris, uma estrutura de tecido erétil com a mesma origem embrionária do pênis no macho (Frandsen et al., 2005).

2.2 O ciclo estral em fêmeas bovinas

O ciclo estral é regulado por mecanismos endócrinos e neuroendócrinos, principalmente os hormônios hipotalâmicos, as gonadotropinas e os esteróides secretados pelo ovário (Hafez, 1995). As principais funções dos hormônios da reprodução estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1. Principais funções dos hormônios da reprodução em fêmeas.

Hormônio	Fonte	Função
GnRH	Hipotálamo	Promove a liberação do FSH e LH
FSH	Hipófise anterior	Estimula o desenvolvimento folicular e a secreção de estrógenos
LH	Hipófise anterior	Estimula a ovulação, formação e manutenção do corpo lúteo
Estradiol	Folículo (ovário)	Estimula a manifestação do cio e a liberação de LH
Progesterona	Corpo lúteo (ovário)	Manutenção da gestação

Fonte: Adaptado de Hafez (1982).

A duração do ciclo estral em fêmeas bovinas varia de 20 a 22 dias, assim convencionou-se, que o intervalo médio é de 21 dias entre dois cios. O ciclo compreende duas fases: folicular ou estrogênica compreendida pelo proestro e estro; e luteal ou progesterônica caracterizada pelo metaestro e diestro (Barbuio, 2005).

Revisões de Stevenson (1997), Bearden & Fuquay (2000) e Hafez & Hafez (2000), citados por Souza (2002), explicam que a progesterona tem papel dominante na regulação do ciclo estral. Durante a fase luteal (diestro), com o corpo lúteo funcional, as altas concentrações de progesterona inibem a liberação do hormônio folículo estimulante (FSH) e do hormônio luteinizante (LH), através do mecanismo de *feedback*

negativo sobre o hipotálamo e a hipófise anterior. Pequenos aumentos episódicos de LH durante este período, podem ser um fator de manutenção da função do corpo lúteo.

Se não houver prenhez, 10 a 14 dias após a formação do corpo lúteo (CL), o útero libera prostaglandina F_2 alfa ($PGF_2\alpha$), a qual alcança o ovário por um mecanismo contracorrente entre a veia útero-ovariana e artéria ovárica, para reduzir a regressão lútea (Rigolon, 2002).

O proestro é caracterizado pelo brusco declínio de progesterona, em que se inicia o processo de maturação do folículo dominante. O declínio de progesterona possibilita o aumento dos pulsos de LH assim como aumento gradual do FSH. Também estimula a síntese de hormônios esteróides produzidos pelas células da granulosa e da teca (dentro e fora do folículo, respectivamente). O estradiol é o esteróide mais importante produzido pelos folículos. Seu efeito é estimular (retroalimentação positiva) o hipotálamo com o consequente incremento de hormônio gonadotrófico (GnRH) e gonadotrofinas que conduzem ao processo final de ovulação. Isto ocorre durante o período do estro (Madureira, 2000).

O estradiol faz com que a fêmea manifeste o principal sinal relativo do cio, que é aceitar a monta. Esta manifestação é sintomática e é de fundamental importância para o manejo reprodutivo (Rigolon, 2002).

Pinto-Neto et al. (2002) relatam que o período do estro tem curta duração (15-18 horas) com amplitude que vai de 8 a 30 horas. De 16-18 horas depois de começado o estro, ocorre o pico ovulatório de LH-FSH, o qual é seguido, de 9-12 horas mais tarde pela ovulação.

O metaestro é caracterizado pela interrupção súbita do estro. No interior do folículo rompido, as células da granulosa e da teca interna se luteinizam para formar

corpo lúteo que secretará progesterona. O útero torna-se flácido, devido ao relaxamento de sua musculatura. Esta fase dura em média 3 dias (Tahira, 1995).

O aumento de progesterona é suficiente para baixar os pulsos de LH, além da ausência de estradiol que é produzido em baixa quantidade neste período. Inicia-se, neste momento, o quarto período (diestro), em que se observam quantidades crescentes de progesterona no plasma, que se manterá durante vários meses em caso de fertilização e, conseqüentemente, a gestação, caso contrário durará somente de 10 a 12 dias. Por último, ocorre a parte final deste período que é a luteólise. A progesterona provoca efeito inibidor na formação de receptores luteais para a $\text{PGF}_2\alpha$. Também, durante este período, participam outro grupo de estruturas ovarianas, que são os folículos. Estes iniciam um processo de desenvolvimento de ondas foliculares (Rigolon, 2002).

No primeiro dia do ciclo, o dia seguinte da ovulação, é possível identificar um bom número de folículos, que, a partir deste momento, competem entre si para chegar a ser o dominante. Depois de 5 a 7 dias é alcançada a dominância e os outros folículos se tornam atresícos. O folículo dominante produz e secreta estradiol e inibina em quantidades crescentes, sendo ambos os hormônios responsáveis pela atresia de folículos acompanhantes e, talvez, da impossibilidade do começo de uma nova onda (Pinheiro et al., 1998).

No 13º ao 14º dia da fase luteal, com ausência do embrião no útero, o estradiol do novo folículo em crescimento promove a síntese de receptores uterinos de ocitocina. Durante toda esta fase luteal, o endométrio uterino é capaz de secretar ácido araquidônico que dará como resultado final a $\text{PGF}_2\alpha$ (Hafez, 1995).

Souza (2002) confirma que, os moderados aumentos de FSH e estradiol que ocorrem durante a fase luteal, são fatores na seleção e crescimento do folículo (ou folículos) que ovularão durante o próximo ciclo. Também estes pulsos, juntamente com

as elevações episódicas de LH neste período, podem ser fatores na manutenção da função do corpo lúteo.

2.2.1 Contrações do trato reprodutivo durante o ciclo estral

Durante o ciclo estral, a frequência de contrações miométricas é máxima e imediatamente após o cio. No cio, as contrações uterinas originam-se na porção posterior do trato reprodutivo e mais predominantemente em direção ao oviduto. Durante a fase luteínica, a frequência de contrações é reduzida e apenas uma pequena porcentagem move-se em direção aos ovidutos (Hafez, 1995).

Santos & Vasconcelos (2006) ressaltam que durante o ciclo estral as contrações do músculo liso são maiores e mais fortes durante o estro. Estas contrações são as principais responsáveis pela movimentação do espermatozóide pelo do útero.

A sobrevivência e o transporte de espermatozóides no trato reprodutivo feminino geralmente diminui depois de qualquer alteração no ciclo estral. O número de espermatozóides na tuba é reduzido após a regulação do cio pela administração de progestágenos e prostaglandinas. A regulação do cio com esses hormônios permite que apenas um número limitados de espermatozóides atinjam a trompa, causando assim uma fertilidade diminuída dos óvulos e uma baixa fertilidade (Hafez, 1995).

Durante o estro, a motilidade uterina no gado bovino, ocorre de maneira intensa e rítmica; no diestro, ao contrário, ocorre uma atividade arritmica muito pequena. No estro, assim como no metaestro, ondas de contração vão da cérvix em direção as tubas uterinas, no metaestro tardio e no proestro, em direção oposta; durante o diestro, existe somente uma motilidade localmente delimitada. Essas ondas de contrações auxiliam no transporte dos espermatozóides até o local da fertilização (Kolb, 1987).

2.3 Transporte dos espermatozóides no trato reprodutivo feminino

Para fertilizar um oócito, o espermatozóide precisa percorrer todo o trajeto desde o ponto da inseminação até o local da fertilização no trato reprodutivo feminino. A fertilização ocorre no terço médio da tuba uterina (ampola). O processo de transporte do espermatozóide no trato reprodutivo feminino não é apenas uma simples migração do local da inseminação até o local da fertilização. É um processo complexo e dinâmico, que inclui fases de distribuição dos espermatozóides, formação de reservatórios espermáticos, modulação da fisiologia do espermatozóide e aquisição de competência para a fertilização, ascensão do espermatozóide competente até o local da fertilização e eliminação da população de espermatozóides não fertilizantes (Santos & Vasconcelos, 2006).

Hafez (1995) comenta que fatores físico-químicos e imunológicos da vagina e da cérvix durante a inseminação apresentam importantes atuações na sobrevivência espermática e no transporte para o útero e trompas.

Depois da ejaculação, os espermatozóides são orientados em direção ao orifício interno do útero. Com os movimentos e vibrações do flagelo, a cabeça do espermatozóide é impulsionada em direção aos canais de menor resistência. As propriedades macro e microrreológicas do muco cervical têm importante papel na migração espermática (Kolb, 1987).

Quando ocorre a monta natural, milhões a bilhões de espermatozóides são colocados na vagina da fêmea e precisam passar pela cérvix. Quando a inseminação artificial é usada, os espermatozóides são colocados diretamente no útero. Tanto na monta natural como na IA, a maioria dos espermatozóides são perdidos por causa do movimento retrógrado da vagina. Partindo do local de deposição, o espermatozóide

precisa chegar até a tuba uterina para fertilizar um oócito (Figura 2) (Santos & Vasconcelos, 2006).

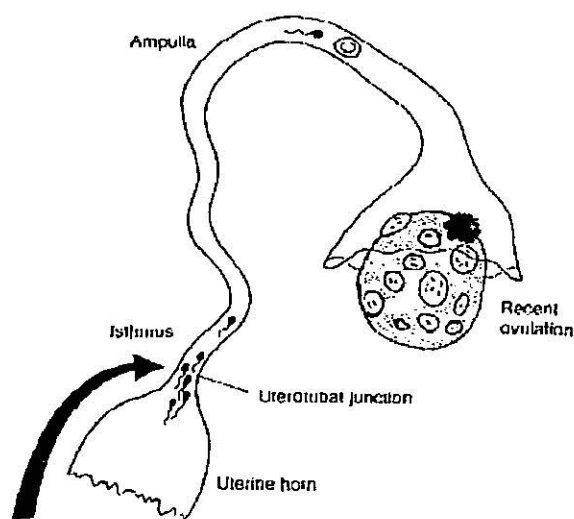


Figura 2: Migração do espermatozóide ao encontro do oócito. Fonte: Adaptado de Gordon (2003).

Segundo Kolb (1987) este transporte se dá, principalmente, por meio de contrações peristálticas da musculatura uterina, estimuladas pela ocitocina. O transporte de espermatozóides do útero para a trompa se processa de forma relativamente lenta, sendo que somente uma pequena parte dos espermatozóides passa para a trompa.

De acordo com Hafez (1995) o transporte do espermatozóide ocorre em duas fases: fase de transporte rápido e fase de transporte lento ou prolongado. No transporte rápido, o espermatozóide chega aos ovidutos em questão de minutos, mas estes espermatozóides geralmente estão mortos ou rompidos, e não contribuem para a população fertilizante. No transporte lento ou prolongado, o espermatozóide migra para o oviduto ao longo de um período de seis a doze horas. Uma vez no istmo da tuba, o

espermatozóide competente para a fertilização não prossegue sua trajetória antes do período peri-ovulatório.

Os mecanismos primários do transporte do espermatozóide são: contrações do músculo liso do trato reprodutivo feminino, batidas dos cílios, correntes de fluidos, e movimento do espermatozóide por atividade flagelar. Apenas os espermatozóides móveis podem cruzar a cérvix e o muco cervical, e a motilidade pode ser necessária também para cruzar a junção útero-tubária. As interações funcionais entre o espermatozóide e os fluidos da luz e superfícies epiteliais do trato reprodutivo feminino promovem a seleção de espermatozóides fisiologicamente normais (Santos & Vasconcelos, 2006).

Pesquisas realizadas em éguas por Bader, (1982), Troedsson, et al. (1998) e Katila et al. (2000) citada por Fiala et al. (2007) demonstram que após a cobertura, os espermatozóides são transportados rapidamente até o oviduto, através das contrações uterinas, que auxiliam também na eliminação do excesso de células. Oito minutos após a inseminação artificial identificou-se espermatozóides marcado radioativamente na ponta do corno uterino. O número de espermatozóides presentes nas trompas aumenta com o decorrer das horas após a inseminação, alcançando sua maior população em aproximadamente 4 horas. Resultados semelhantes foram observado por Brinsko et al. (1991) com a realização de lavagens uterinas 4 horas após a inseminação artificial sem diminuição da fertilidade.

Durante o transporte, os espermatozóides se acumulam e são retidos em algumas regiões do trato reprodutivo por períodos de tempo prolongado. Estas regiões são denominadas reservatórios espermáticos. Ainda que, durante muitos anos, o corpo do útero tivesse sido considerado como um reservatório espermático, porque muitos espermatozóides são nele encontrados durante a fase de transporte prolongado, o

reservatório funcional está no istmo da tuba uterina. Este é considerado como o reservatório funcional porque é acionado no momento da ovulação. O espermatozóide que irá interagir com o oócito provém deste reservatório (Santos & Vasconcelos, 2006).

2.4 Capacitação espermática

Antes do espermatozóide se ligar ao oócito, ele sofre uma série de mudanças bioquímicas no trato genital feminino, processo chamado de capacitação espermática, alterando a composição lipídica (efluxo de colesterol) e glicoprotéica da membrana plasmática. Ainda, ocorre uma elevação do metabolismo espermático e de sua motilidade (Gabaldi, 2002).

Após a ejaculação, os espermatozóides não são capazes de fecundar os oócitos, mesmo apresentando motilidade e aparente normalidade morfológica, pois adquirem esta capacidade no trato genital feminino em um processo tempo dependente denominado capacitação espermática (Perez et al., 1996).

Segundo Gordon (2003) a capacitação é um processo que envolve o espermatozóide em uma complexa série de reações bioquímicas e fisiológicas. O processo de capacitação irá induzir mudanças na membrana plasmática do espermatozóide que resultarão em um aumento da sua afinidade pela zona pelúcida, propiciando a fertilização.

Estudos realizados por Yanagimachi (1994) citado por Sousa (2003) relatam que quando a fêmea está pronta para ovular, ela entra em estro e aceita o macho. Se ela é coberta imediatamente ou logo após o início do estro, os espermatozóides que foram selecionados na cérvix e/ou na junção útero-tubárica são armazenados em segmentos anteriores ao istmo, ficando aderidos ao epitélio, mantendo-se viáveis e se tornando capacitados lentamente. Alguns completam a capacitação no momento da ovulação, deixando o istmo, e podendo fertilizar o oócito recém ovulado. Outros completarão a

capacitação após a ovulação e deixarão o istmo logo após o final deste processo, fertilizando os oócitos que chegaram ao oviduto algum tempo depois da primeira ovulação. Se a fêmea não puder ser novamente coberta após a ovulação, o processo de capacitação é acelerado e os espermatozóides deixarão o istmo mais cedo, antes dos oócitos ficarem velhos no oviduto.

O local onde se inicia e termina a capacitação espermática pode variar de acordo com a espécie. Nas espécies onde o sêmen é depositado intra-útero durante a cobertura, os espermatozóides encontram-se totalmente ou a maior parte deles capacitados nas partes iniciais do istmo, onde os espermatozóides “fertilizadores” estão armazenados. Nas espécies em que os espermatozóides são depositados na vagina durante a cobertura, como, por exemplo, nos ruminantes, a capacitação espermática pode ter início enquanto os espermatozóides passam através do muco cervical (Ferrari, 1997).

2.5 Local de deposição do sêmen e sua influência na taxa de fertilidade

Durante o acasalamento, o touro deposita bilhões de espermatozóides no interior da vagina. O número de espermatozóides normalmente alcançado no final do corpo uterino não excede a 1%. A reprodução de bovinos utilizando métodos convencionais de IA, envolve a deposição do sêmen no corpo do útero. No entanto, foi proposto, por alguns autores, que o local de deposição do sêmen pode ser nos cornos uterinos (Lopez-Gatius, 1988; Pallares et al. 1986; Larsson, 1986; Lopez-Gatius, 1999).

Essa sugestão de depositar o sêmen em um dos cornos ou nos dois, foi baseada em dois fatores: a aceitação que o principal reservatório espermático pode ser a junção útero-tubárica, mais até que o canal cervical, bem como a falta de precisão no local de deposição de sêmen pelos inseminadores. A vantagem na profundidade da inseminação nos cornos uterinos, é que ela favorece a deposição de sêmen mais perto do

entroncamento útero-tubárico e, portanto, reduz a incidência de deposição cervical (Lopez-Gatius, 1988).

Os fatores que afetam a taxa de fertilização, além do transporte de espermatozóides, incluem, idade da vaca, época do ano, intervalo pós-parto, fase do ciclo estral, quantidade de dose utilizada de FSH durante a superovulação, o número e a época das inseminações artificiais e o local de deposição do sêmen (Hawk, 2003).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados dois experimentos, sendo o primeiro conduzido na Fazenda São Francisco, no município de Colorado do Oeste - RO, localizado na região Sul do Estado, o qual limita-se ao norte com os municípios de Vilhena, Chupingui e Corumbiara, ao sul com o município de Cabixi, ao leste com o município de Comodoro (MT) e a oeste com o município de Cerejeiras. Está localizado na latitude 13°07'00" sul e longitude 60°32'30" oeste, a uma altitude de 460 metros, com temperatura média anual de 24°C e precipitação média anual de 1600 mm. O segundo experimento foi realizado na fazenda Barra do Prata, no município de Pontes e Lacerda - MT situada a 450 km de Cuiabá, localizado na latitude 15°13'34" sul e longitude 59°20'07" oeste, com altitude de 254 metros, com temperatura média anual de 25°C e precipitação média anual é de 1500 mm.

No experimento um, foram utilizadas seis vacas aneloradas, com peso vivo médio de 450 kg, mantidas a pasto, em bom estado sanitário com aplicações periódicas de anti-helmíntico e vacinações contra febre aftosa e clostridioses, e recebendo suplementação com sal mineralizado. A idade média dos animais estava entre quatro e cinco anos com escore corporal entre 3 e 3,5 (escala de 1 a 9) e ganhando peso.

Para o segundo experimento foram utilizadas quatro vacas, sendo duas aneloradas e duas cruzadas $\frac{1}{2}$ sangue Nelore x $\frac{1}{2}$ sangue Red Angus, também mantidas a pasto, com o fornecimento de sal mineralizado, com idade variando entre cinco e seis anos, com peso médio de 500 kg e escore corporal variando entre 3,5 a 4,0 (escala de 1 a 9) e recebendo os mesmos cuidados sanitários do primeiro.

Os experimentos foram realizados no mês de maio de 2008, tendo a duração de 15 dias cada. No primeiro dia (considerado D0) as vacas receberam implante intravaginal

contendo 5 mg de progesterona (Estroforte®) e aplicação de 2 ml de solução contendo 3 mg de progesterona e 2 mg de estradiol (Estroforte®).

O início da superovulação ocorreu no quarto dia (D4) sendo efetuado com o uso de 250 UI de Gonadotrofina Hipofisária Suína (Pluset®) durante quatro dias, em doses decrescentes, com duas aplicações intramusculares diárias como segue:

1 °. Dia (D4) - 100 UI sendo 50 UI pela manhã e 50 UI à tarde.

2 °. Dia (D5) - 75 UI sendo 37,5 UI pela manhã e 37,5 UI à tarde.

3 °. Dia (D6) - 50 UI sendo 25 UI pela manhã e 25 UI à tarde.

4 °. Dia (D7) - 25 UI sendo 12,5 UI pela manhã e 12,5 UI à tarde.

No sexto dia (D6), pela manhã, retirou-se o implante de progesterona e aplicou-se, via intramuscular, 5 ml de prostaglandina $F_2\alpha$ (Lutalyse®), sendo repetida a aplicação de meia dose no D7 pela manhã. No D8, pela manhã, foi aplicado via intramuscular 1 ml de benzoato de estradiol (Estrogin®) e a primeira IA foi realizada à tarde do mesmo dia e a segunda IA na manhã do dia seguinte.

Para as IAs, as vacas foram divididas aleatoriamente em dois grupos, sendo: metade das vacas inseminadas no corno direito e a outra metade no corno esquerdo.

Para o manejo na inseminação artificial, o material foi organizado de maneira a permanecer próximo às vacas que seriam inseminadas no tronco de contenção. As luvas foram calçadas pelo lado avesso e a descongelação do sêmen foi efetuada em água a 35°C, por 30 segundos e após este tempo, foram secadas e colocadas em aplicador universal de sêmen e após a transfixação da cérvix, o aplicador foi conduzido até a curvatura do corno escolhido. No momento da IA evitou-se ao máximo o estresse sobre as fêmeas ao se praticar o ato inseminatório.

A coleta dos embriões foi realizada no sétimo dia após a primeira inseminação artificial, sendo realizada pelo método não cirúrgico, em sistema fechado, utilizando Catéter de Folley número 18 e filtro coletor graduado.

Primeiramente, procedeu-se a aplicação do anestésico, seguida do esvaziamento do reto, lavagem da vulva com água e sabão e posterior secagem. O catéter foi introduzido através da vagina, ultrapassando o canal cervical e conduzido até a porção do corno direito ou esquerdo. Após atingir a profundidade desejada no corno uterino, o balão foi inflado com aproximadamente $1,2\text{ cm}^3$ de ar. O catéter foi conectado a duas mangueiras de silicone, tendo uma delas comunicação com o recipiente contendo o meio de colheita dos embriões (solução fisiológica); e a outra com o recipiente coletor (filtro coletor). Iniciou-se assim a colheita (demonstração figura 3) permitindo a entrada da solução fisiológica por força da gravidade.

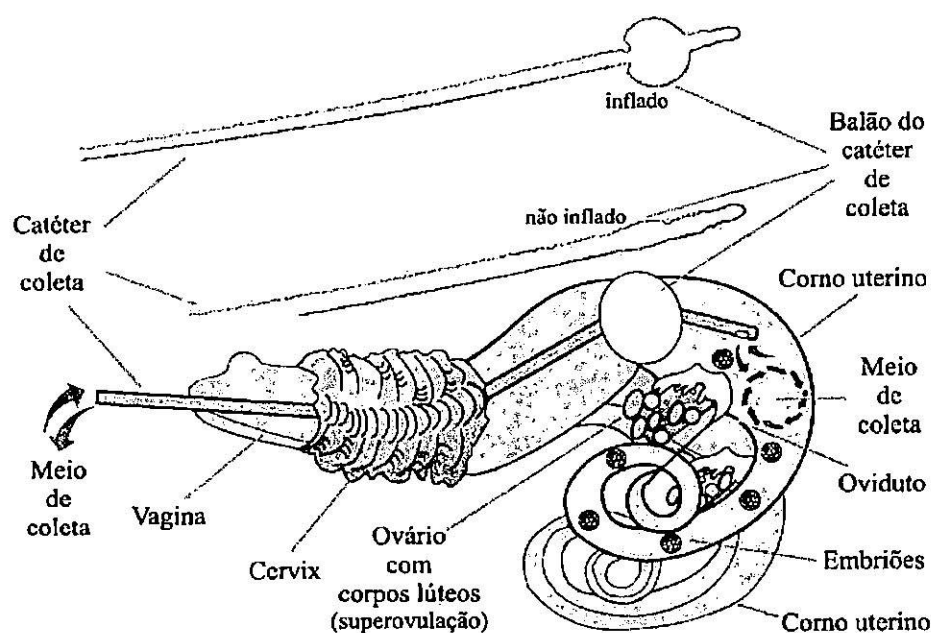


Figura 3: Introdução e controle do posicionamento do cateter de colheita (esquemático).

Fonte: Barros & Ereno (2004).

Em seguida, realizou-se a procura, captação e classificação dos embriões. A procura foi realizada com auxílio de um microscópio estereoscópio com capacidade de aumento de 40 a 200 vezes. As estruturas encontradas foram transferidas para uma placa de Petri (com auxílio de uma micropipeta) de 30 ml contendo solução filtrada de PBS a 20% de soro fetal bovino. Os embriões foram submetidos a várias lavagens (aproximadamente sete) com esta solução com o objetivo de retirar as sujeiras, mucos e eventuais contaminações contidas no líquido da colheita.

Terminada a procura, procedeu-se a classificação dos embriões (figura 4) quanto ao estágio de desenvolvimento e qualidade embrionária, segundo a metodologia modificada por Pinto-Neto et al. (2002), descritas nas tabelas 2 e 3.

Tabela 2. Classificação dos embriões bovinos quanto ao estágio de desenvolvimento.

Estádio de desenvolvimento	Definição
Mórula	Aglomerado celular que permite distinção entre os blastômeros, porém sem diferenciação celular.
Blastocisto inicial	Início da diferenciação entre as células do trofoblasto e massa celular interna, com o aparecimento de uma pequena cavidade entre os blastômeros (blastocelo).
Blastocisto	Clara diferenciação entre as células do trofoblasto e massa celular interna. Blastocelo visível. O embrião ocupa a maior parte do interior da zona pelúcida sem alteração do diâmetro do embrião.
Blastocisto expandido	Aumento 1,2 a 1,5 vez o diâmetro embrionário, com adelgaçamento da zona pelúcida em até dois terços da espessura inicial.
Blastocisto eclodido	Embrião fora do espaço peri-vitelínico, podendo estar próximo ou não da zona pelúcida, apresentando o dobro do volume inicial.
Ovócito	Gameta feminino não fecundado. Não há distinção entre as células. Espaço interno a zona pelúcida homogêneo.

Fonte: Adaptado de Pinto-Neto (2002).

Tabela 3. Classificação de embriões bovinos quanto à qualidade embrionária.

Estádio de desenvolvimento	Definição
Grau I	Embrião excelente. Possui zona pelúcida intacta e esférica, blastômeros íntegros, uniformes, nenhum fragmento ou debris celular no espaço peri-vitelínico ou blastocele.
Grau II	Embrião bom. Pequenas alterações na forma e coloração dos blastômeros. Alguns fragmentos ou debris celulares no espaço peri-vitelínico e/ou pequenas formações vesiculares nos blastômeros.
Grau III	Embrião regular. Alterações significativas nos blastômeros, porém com maior parte deles intacta.
Grau IV	Embrião ruim. Muitos fragmentos ou debris celulares no espaço peri-vitelínico e/ou blastocele. Formações vesiculares e alterações degenerativas evidentes. Menos da metade dos blastômeros intactos.
Estrutura degenerada	Estrutura comprometida que impede a classificação quanto ao estágio de desenvolvimento.

Fonte: Adaptado de Pinto-Neto (2002).

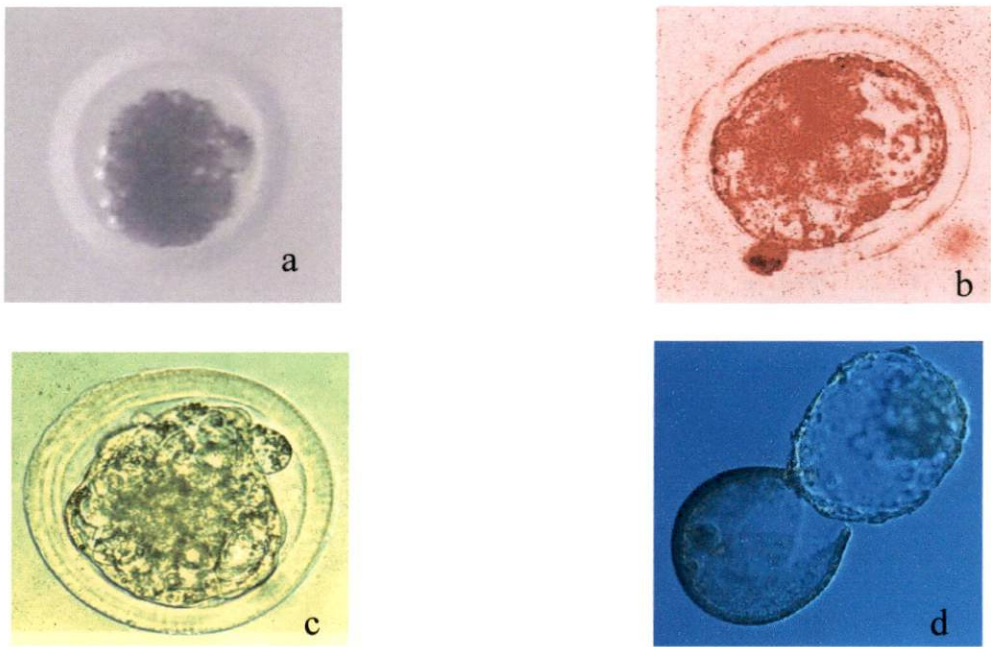


Figura 3: Estágio de desenvolvimento do embrião: mórula (a), blastocisto inicial (b), blastômeros (c) e blastocisto eclodido (d). Fonte: Adaptado Pinto-Neto (2002).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos após a inseminação e coleta de embriões podem ser observados nas Tabelas 4 e 5, respectivamente para os experimentos um e dois. Em ambos os experimentos foram encontradas estruturas fertilizadas nos cornos contralateral e ipsilateral à IA. Estes dados confirmam a migração dos espermatozóides de um corno uterino para o outro.

No primeiro experimento (Tabela 4) das seis vacas inseminadas, três apresentaram estruturas fertilizadas ou não, no corno contralateral a IA. Destas três, apenas em uma, foram encontradas estruturas somente no corno contralateral a IA, no restante dos animais não foram encontradas nenhuma estrutura em ambos os cornos.

Tabela 4. Estruturas encontradas nos cornos uterinos de vacas superovuladas e inseminadas artificialmente no corno direito ou esquerdo, observadas no primeiro experimento.

<i>Vaca</i>	<i>IA (corno)</i>	<i>Estruturas encontradas</i>	
		Corno direito	Corno esquerdo
1	Direito	3 estruturas fertilizadas	2 estruturas fertilizadas
2	Esquerdo	5 estruturas fertilizadas	5 estruturas fertilizadas
3	Direito	Nenhuma estrutura	6 estruturas, sendo 3 fertilizadas e 3 infertilizadas
4	Direito	Nenhuma estrutura	Nenhuma estrutura
5	Esquerdo	Nenhuma estrutura	Nenhuma estrutura
6	Esquerdo	Nenhuma estrutura	Nenhuma estrutura

No segundo experimento (Tabela 5), das quatro vacas utilizadas, duas apresentaram estruturas no corno contralateral a IA, confirmando a migração; dentre estas duas, uma foi encontrado apenas estruturas no corno contralateral a IA. Em uma

vaca foi encontrada estruturas apenas no corno ipsilateral a IA, não havendo migração e na outra não foi encontrada nenhuma estrutura em ambos os cornos.

Tabela 5. Estruturas encontradas nos cornos uterinos de vacas superovuladas e inseminadas artificialmente no corno direito ou esquerdo, observadas no segundo experimento.

<i>Vaca</i>	<i>IA (corno)</i>	<i>Estruturas encontradas</i>	
		Corno direito	Corno esquerdo
1	Direito	Nenhuma estrutura	8 estruturas (6 fertilizadas e 2 infertilizadas)
2	Esquerdo	Nenhuma estrutura	1 estrutura fertilizada
3	Esquerdo	11 estruturas fertilizadas	3 estruturas fertilizadas
4	Direito	Nenhuma estrutura	Nenhuma estrutura

Portanto, em média (obtidos nos dois experimentos), foram observados que ocorreram migrações espermáticas contralateral em 50% das vacas utilizadas, tendo em vista que, 40% do total das vacas utilizadas não responderam ao tratamento superovulatório. Isso pode ser explicado, segundo Hafez (1995), pelo fato de que, muitas doadoras não produzem quaisquer embriões normais, ao passo que poucas os produzem em grandes quantidades. Segundo o mesmo autor, cerca de metade dos embriões recolhidos de um grupo de fêmeas superovuladas são tipicamente produzidos de ¼ das doadoras, não sendo possível predizer como irá responder uma doadora em particular, sendo este o maior obstáculo para a aplicação do método com sucesso.

Resultados semelhantes a este experimento também foram encontrados por Pallares et al. (1986), que ao trabalhar com 20 vacas superovuladas, inseminadas em

diferentes locais corno direito (n=5) e esquerdo (n=4), meio do corpo uterino (n=5) e no meio da cérvix (n=6); e avaliadas após o abate ($115 \pm$ horas após a IA), verificaram que a fertilização foi semelhante em todos os tratamentos, exceto os inseminados no corno contralateral ($p < 0,05$). Os autores concluem que ocorre migração espermática entre os cornos uterinos e que quando as inseminações são realizadas no corno contralateral podem ocorrer reduções na taxa de concepção.

Pode ser observado também (Tabela 4 e 5) que a maioria das estruturas encontradas no primeiro e segundo experimento foram no corno uterino esquerdo (57%), obtendo uma relação de 62:38 e 52:48 (esquerdo:direito), respectivamente. Lopez-Gatius (1999) revisando o local de deposição do sêmen em novilhas e vacas, concluiu que houve diferença quanto ao número de estruturas encontradas nos cornos uterinos, sendo que o maior número de embriões foram recuperados do lado esquerdo quando o sêmen foi introduzido do lado direito, do que o inverso, porém, o autor justifica que o número de animais eram reduzidos (até 11). Quando avaliou maior número de animais (1686 novilhas), Lopez-Gatius (1996) comenta que a atividade do lado direito ou esquerdo não afeta o transporte transuterino do esperma.

Momont et al. (1989) realizaram dois experimentos, no primeiro foram utilizadas 72 novilhas leiteiras, sendo 25 inseminadas na transição da cérvix e útero, 23 no corno uterino ipsilateral e 24 no contralateral ao ovário com folículo pré-ovulado. As taxas de prenhez não diferiram para os três grupos de novilhas. No segundo foram utilizadas 38 novilhas leiteiras, 31 foram inseminadas no corno uterino ipsilateral e 33 no contralateral ao ovário pré-ovulado. As taxas de prenhez também foram semelhantes. Os autores concluíram que a colocação de sêmen no corno uterino não parece ser uma causa de diminuição ou aumento da taxa de prenhez com a IA.

Porém, alguns autores (Fernandez-VanCleve et al., 1986; Lopez-Gatius, 1988; Lopez-Gatius, 1996) observaram que taxas de prenhez mais altas foram encontradas quando a inseminação foi realizada no corno uterino ipsilateral ao ovário com folículo pré-ovulado, quando comparadas ao contralateral ou inseminações no corpo do útero.

Dalton et al. (1998) comentam que se a inseminação uterina for profunda irá favorecer o acesso dos espermatozóides nos oócitos, quando comparado à inseminação no corpo uterino convencional, aumentando assim, a taxa de fertilização.

Larsson et al. (1986) avaliaram oito vacas com deposição de sêmen em um dos cornos uterinos, e após duas horas da IA esses animais foram abatidos e realizado a contagem da concentração espermática. Do total das oito vacas inseminadas, cerca de sete apresentaram mais espermatozóides no corno contralateral a IA. Esses autores não chegaram a uma conclusão sobre a relação da atividade do ovário e a distribuição dos espermatozóides.

Segundo Lopez-Gatius (1999), o aumento de distúrbios reprodutivos e infertilidade, bem como o desenvolvimento de novas tecnologias, como a sexagem de sêmen, que apresenta menor concentração de espermatozóides, podem justificar a aplicação dessas metodologias que avaliam o local de deposição do sêmen em locais específicos do aparelho reprodutivo de fêmeas bovinas.

É importante ressaltar que foram encontrados poucos trabalhos específicos sobre migração espermática em bovinos. Desta forma, mais trabalhos poderiam se realizados, utilizando maior número de animais (repetições), para que possamos chegar a um resultado mais conclusivo, principalmente quando relacionados com a taxa de prenhez.

5. CONCLUSÃO

Sob as condições do presente estudo, utilizando vacas superovuladas e inseminadas no corno uterino direito ou esquerdo e posterior coleta dos embriões para a análise da migração espermática, concluímos que a migração espermática ocorre em bovinos. Sugere-se que futuros experimentos sejam conduzidos, no sentido de se aumentar o número de animais envolvidos.

6. LITERATURA CITADA

- BARBUIO, J.P. **Interpretação dos Protocolos de Sincronização, considerando-se categoria e funcionalidade animal.** Apostila. São José do Rio Preto, 2005. 33p.
- BARROS, C.M. **Controle do desenvolvimento folicular e da ovulação para inseminação artificial, superovulação e transferência de embriões bovinos.** Botucatu: UNESP, 2008. Disponível em: http://www.fesbe.org.br/regional2008/programa/cursos/controle_desenvol.doc -. Acessado em: 21/03/08.
- BARROS, C. M.; ERENO, R. L. **Avanços em tratamentos hormonais para a IATF em Bovinos de Corte.** Reprodução dos animais domésticos: O que todo profissional deve saber. CD-ROM. Maringá-PR, 2004.
- BARUSELLI, P. S.; SENEDA, M.M. Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada. Tema do simpósio: **Biotechnology da Reprodução em Bovinos.** São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2006.
- BRINSKO, S.P.; VARNER, D.D.; BLANCHARD, T.L. The effect of uterine lavage performed four hours post insemination on pregnancy rate in mares. *Theriogenology*, v.35, p.111-119, 1991.
- DALTON, J.C.; NADIR, S.; BAME, J.H. et al. Effect of a deep uterine insemination on spermatozoal accessibility to the ovum in cattle: a competitive insemination study. *Theriogenology*, V. 51, p.883-890, 1999.
- DINIZ, O. **Inseminação Artificial.** 1996. Disponível em: <http://www.pardosuico.com.br/insem.htm>. Acessado em: 02/04/08.
- FERNANDEZ-VANCLEVE, V.; ZAVOS, P.M.; SALIM, B. et al. The influence of site of semen deposition on conception in artificially inseminated (AI) cows and heifers. *J Anim Sci*, v.63. 1986.
- FERRARI, S. **Meios de capacitação espermática na espécie ovina (Ovis áries, Linnaeus, 1758): reação acrossômica e penetração in vitro em oócitos zona-free de hamster.** Botucatu: Universidade Estadual de São Paulo, 1997. 71p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade Estadual de São Paulo, 1997.
- FIALA, S.M.E.; MALSCHITZKY, E. JOBIM, M. et al. Aspectos relacionados ao transporte espermático e resposta inflamatória uterina em éguas. *Rev Bras Reprod Anim.* Belo Horizonte, v.31, n.1, p.3-7, jan./mar. 2007.
- FRANDSON, R.D.; LEE WILKE, W.; FAILS, A.D. **Anatomia e Fisiologia dos Animais de Fazenda.** 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A, 2005. 454p.
- GABALDI, S.H.; WOLF, A.; ESPER, C.R. Os eventos da fertilização em mamíferos. *Ciê. Agr. Saúde.* FEA, Andradina, v. 2, n. 2, jul-dez, 2002, p 61-65.

- GWAZDAUSKAS, F. C.; LINEWEAVER, J. A.; VINSON, W. E. Rates of conception by artificial insemination of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 64, p. 358, 1980.
- GORDON, I. Capacitating bovine sperm. **Laboratory production of cattle embryos**. 6 ed. Wallingford: CABI Publishing, 2003. 576p.
- HAFEZ, E. S. E. **Reprodução Animal**. 6 ed. São Paulo: Manole, 1995. p. 431-435.
- HAWK, H.W. Gamete transport in the superovulated cow. **J Anim Sci**, v.53, 2003.
- KOLB, E. **Fisiologia Veterinária**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A, 1987. p. 393-395.
- LARSSON, B. Transuterine transport of spermatozoa after artificial insemination in heifers. **Anim Reprod Sci**. v.12, 1986.
- LOPEZ-GATIUS, F. Increase in pregnancy rate in dairy cattle after preovulatory follicle palpation and deep corneal insemination. **Theriogenology**, v. 29, p. 1099-1103, 1988.
- LOPEZ-GATIUS, F. Transuterine sperm transport is not affected by bilateral asymmetry of the reproductive system in dairy cows. **Theriogenology**, v.47, p.1319-1325, 1996.
- LOPEZ-GATIUS, F. Site of semen deposition in cattle: a review. **Theriogenology**, v.53, p. 1407-1414, 1999.
- MADUREIRA, E. H. Controle farmacológico do ciclo estral com emprego de progesterona e progestágenos em bovinos. In: SIMPÓSIO SOBRE O CONTROLE FARMACOLÓGICO DO CICLO ESTRAL EM RUMINANTES. **Anais...** São Paulo: USP-FMVZ, p. 89-98, 2000.
- MARTIN, I. **Caracterização morfo-funcional do útero de bovinos durante o ciclo estral**. Botucatu: Universidade Estadual de São Paulo, 2003. 30p. Tese (Mestrado em Reprodução Animal) – Universidade Estadual de São Paulo, 2003.
- MOMONT, H.W et al. Does intrauterine site of insemination in cattle really matter?. **Theriogenology**, v.32, 1989.
- MORAES, G.V. **Reprodução e inseminação artificial dos animais domésticos**. Maringá: UEM, 2000.
- MORAES, I.A. **Reprodução nas fêmeas**. 2001. Disponível em: http://www.uff.br/fisiovet/Conteudos/reproducao_femeas.htm. Acessado em: 22/05/08.

- PALLARES, A.; ZAVOS, P.M.; HEMKEN, R.W et al. Fertilization rates and embryonic development in superovulated cattle inseminated in different sites within the reproductive tract. **Theriogenology**, v.26, p. 709-719, 1986.
- PEREZ, 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.
- PINHEIRO, O.L.; BARROS, C.M.; FIGUEREDO, R.A. et al. Estrous behavior and the estrus-to-ovulation interval in Nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with prostaglandin F₂ alpha or norgestomet and estradiol valerate. **Theriogenology**, v. 49, p. 667-681, 1998.
- PINTO-NETO, A. **I Semana de Atualização em Reprodução e Produção de Bovinos: Superovulação, Coleta, Avaliação e Transferência de Embriões em Bovinos**. Unipar: Umuarama, 2002.
- RIGOLON, L.P. **I Semana de atualização em reprodução e produção de bovinos**. Dissertação (Pesquisa) Sincronização de Estro em Fêmeas Bovina – Universidade Paranaense Curso de Medicina Veterinária Setor de Reprodução Animal, 85p 2002.
- SANTOS, R.M; VASCONCELOS, J.L.M. **Fatores que afetam a proporção entre sexos ao nascimento em bovinos leiteiros**. 2006. Disponível em: <http://www.amigosdocampo.com.br/materias/gadoleite/materia001.asp>. 2006
Acessado em 13/05/2008.
- SANTOS, A.V.; FERRAZZOLI, M.O. **Ciclo estral nos animais**. São Paulo: UMESP, 1999. 38p.
- SOUSA, D.B. **Eventos envolvidos no processo da capacitação espermática in vivo**. Botucatu: Universidade Estadual de São Paulo, 2003. 28p. Tese (Doutorado em Reprodução Animal) – Universidade Estadual de São Paulo, 2003.
- SOUZA, M.I.L. **I Semana de atualização em reprodução e produção de bovinos**. Dissertação (Pesquisa) Endocrinologia Reprodutiva na Fêmea Bovina – Universidade Paranaense Curso de Medicina Veterinária Setor de Reprodução Animal, 85p 2002.
- SOUZA, J.C. **Fisiologia reprodutiva de vacas leiteira**. 2001. Disponível em: http://www.dzo.ufla.br/Professores/camisao_arquivos/zoo141/Anatomia%20SGF.doc – 2001. Acessado em: 25/04/08.
- TAHIRA, J.K. **Transferência de Embriões**. Instituto Agrônomo do Paraná – IAPAR. Curitiba – PR, 1995.35p.
- VALLE, E.R. **O ciclo estral de bovinos e métodos de controle**. Campo Grande: Embrapa, 1991. Disponível em: <http://www.cnpqc.embrapa.br/publicacoes/doc/doc48/07bibliografia.html>. Acessado em: 15/04/08.

VANZIN, I. M. **Manual de Inseminação Artificial**. 2002. Disponível em:
<http://www.pecplanabs.com.br>. Acessado em: 16/05/08.