

591.4:636

L131 d

C92959155

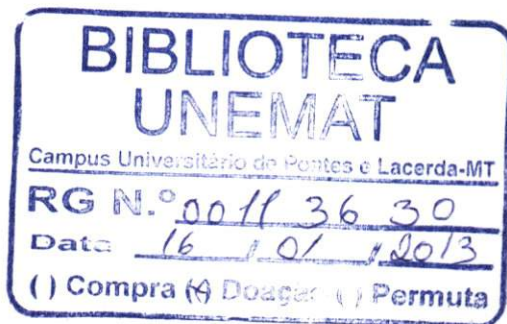
UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

**DIFERENCIAÇÃO SEXUAL DOS EMBRIÕES DE ANIMAIS
DOMÉSTICOS**

Autora: Amélia Cândida Lacerda
Orientador: Prof. Me. Lourival de Souza e Silva Júnior

UNEMAT
Campus Universitário de Pontes e Lacerda - MT
BIBLIOTECA

“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.”

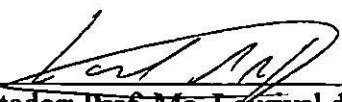


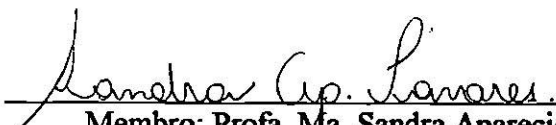
PONTES E LACERDA
DEZEMBRO/2011

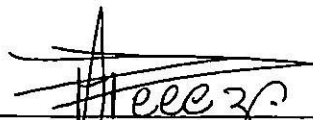
UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

**DIFERENCIAÇÃO SEXUAL DOS EMBRIÕES DE ANIMAIS
DOMÉSTICOS**

Autora: Amélia Cândida Lacerda


Orientador: Prof. Me. Lourival de Souza e Silva Júnior


Membro: Profa. Ma. Sandra Aparecida Tavares


Membro: Méd. Veterinária Priscila Aparecida Perez

PONTES E LACERDA
DEZEMBRO/2011

Às pessoas que estiveram comigo todos os
momentos da minha vida; em especial
à minha mãe Francisca Ap^a Lacerda
e ao meu pai Marcio Humberto Lacerda
que destinam suas vidas a mim.

Dedico-lhes com carinho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que fez possível a vida e a habilidade para que estivéssemos sempre em busca de nossas realizações.

À Universidade do Estado de Mato Grosso, pela possível realização deste trabalho.

Ao Departamento de Zootecnia do Campus de Pontes e Lacerda, e aos professores vinculados a ele que passaram pelo meu processo de aprendizado e foram amigos, auxiliando-me com dicas e experiências horas passadas a mim.

Ao professor Lourival de Souza Silva Júnior pela paciência e disponibilidade durante o processo de confecção deste.

À Adriana F. Barros e Jocilaine Garcia professoras em que me espelhei desde o início da minha jornada acadêmica e que continuarão sempre sendo minha inspiração.

Aos meus familiares, pais, irmão, irmãs e sobrinhos que tanto amo, sempre presentes durante todo o processo de amadurecimento profissional, tornado possíveis várias de minhas conquistas na área de atuação.

À família Mazeto Bernardelli que fizeram ao longo do meu curso parte de minha vida me dando apoio.

Gostaria de deixar expressa minha gratidão e meu apreço a minha amiga e colega Lara Bernardelli, que ao longo do meu curso me auxiliou com meu crescimento e colaborou com minha permanência no curso.

À Priscila Aparecida Perez e outros amigos aqui não especificados, colegas de sala e da universidade que fizeram parte desta caminhada, durante todo este tempo de convívio.

Agradecendo-os de todo o meu coração.

"O meu nome é MULHER!

No princípio eu era a Eva

Mais tarde fui Maria

Mas isso não me bastaria.

Passei a ser Amélia

A mulher de verdade

Para a sociedade

Não tenho a menor vaidade

Mas sonho com a igualdade.

Hoje decidi:

Quero minha dignidade

Tenho meus ideais!

Hoje não sou só irmã ou filha

Sou tia- mãe, e a felicidade da família

Sou parceira, viajante e farrista,

Com a alma sempre em construção...

Ao mundo agora peço licença

Para atuar com a minha ciência

Minha virtude é COMPETÊNCIA,

Meu sobrenome é ZOOTECNISTA,

E minha vida agora é só CONQUISTAS!"

Adaptado de Sabrina Mata

RESUMO

Reprodução é a multiplicação da espécie pelo acasalamento ou pela inseminação artificial. Uma boa eficiência reprodutiva permite maior vida útil dos animais e mais nascimentos de bezerras. Para se ter a diferenciação sexual, o embrião passa por processos que podem ser observados e diferenciados os folículos embrionários para a determinada funcionalidade; as fases de desenvolvimento da embriologia passam por: segmentação, gastrulação, neurulação e organogênese. O objetivo desta revisão bibliográfica é mostrar algumas fases da reprodução e da embriologia, com ênfase na diferenciação e determinação sexual dos embriões. Além dos gametas, há muito mais diferenças entre os machos e as fêmeas: o sistema reprodutor, que confere características sexuais primárias, essenciais para a reprodução; e as características sexuais secundárias, que não são essenciais, mas ajudam na reprodução. A técnica de sexagem de embriões pode ser bastante eficaz, podendo alavancar a produção de bovinos para os pecuaristas interessados em maximizar o número de progênie. A estreita relação da sexagem e transferência de embriões com a produção animal têm alterado o comércio tradicional de reprodutores, elevando substancialmente o valor das fêmeas geneticamente superiores.

Palavras-chave: biotecnologias, determinação sexual, embriologia, sistemas reprodutores.

ABSTRACT

Reproduction is the multiplication of the species by mating or by artificial insemination. A good reproductive efficiency enables longer life of animals and more births of calves. To have sexual differentiation the embryo goes through processes which can be observed and differentiated embryonic follicles for certain functionality, the development stages of embryology pass: segmentation, gastrulation, neurulation and organogenesis. The purpose of the literature review is to show some stage of reproduction and embryology with emphasis on differentiation and sex determination of embryos. In addition to the gametes, there are many more differences between males and females, the reproductive system which gives primary sexual characteristics, essential for reproduction and secondary sexual characteristics that are not essential, but helps in reproduction. The technique for sexing of embryos can be quite effective. You can leverage the production of cattle for ranchers interested in maximizing the number of progeny. The close relationship of embryo transfer and sexing animal production have changed the traditional business of breeding, raising substantially the value of genetically superior females.

Keywords: biotechnology, sex determination, embryology, reproductive systems.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1 Reprodução	11
2.2 Anatomia do Sistema reprodutor.....	11
2.2.1 Sistema reprodutor da fêmea	11
2.2.2 Sistema reprodutor dos machos.....	14
2.3 Mecanismos da reprodução	16
2.3.1 Fisiologia reprodutiva feminina	16
2.3.2 Fisiologia reprodutiva masculina	19
2.4 Embriologia.....	20
2.4.1 Fase embrionária.....	21
2.5 Determinação e diferenciação sexual.....	23
2.6 Biotecnologias na sexagem de embrião.....	28
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	31
REFERÊNCIAS	32

1 INTRODUÇÃO

Reprodução é a multiplicação da espécie pelo acasalamento ou pela inseminação artificial. Uma boa eficiência reprodutiva permite maior vida útil dos animais e mais nascimentos de bezerros.

Conforme colocado por Granados et al. (2006), o conhecimento do aparelho reprodutor masculino e feminino é de suma importância para um melhor entendimento do funcionamento do sistema reprodutivo.

Fertilização interna está intimamente associada com a conquista do ambiente terrestre e são típicas de répteis, aves, mamíferos e insetos. Neste tipo de fertilização o macho expelle o espermatozóide para dentro do corpo feminino, o que exigirá mecanismos comportamentais de aproximação e de interação física bastante sincronizada. A conquista do ambiente terrestre também proporcionou duas formas de desenvolvimento do embrião: fora do corpo feminino, mas dentro de uma casca contendo o líquido amniótico, ou, dentro do corpo feminino, em um útero (NISHIDA, 2006).

Segundo Nascimento e Santos (2003), a determinação do sexo divide-se em três níveis: sexo genético, sexo gonadal e sexo fenotípico. Sendo que o sexo genético é determinado durante a fertilização, quando um espermatozóide X ou Y penetra um óvulo, formando um zigoto de constituição XX ou XY. A determinação do sexo gonadal ocorre depois, quando a gônada indiferenciada se transforma em ovário ou testículo, sendo influenciado pelo sexo genético. O sexo fenotípico depende do desenvolvimento de estruturas que se origina do seio urogenital.

O controle da proporção dos sexos nas espécies domésticas é potencialmente de grande interesse comercial para a agropecuária. Embora a sexagem de espermatozoides possa ser a maneira mais vantajosa para a seleção do sexo nos animais por ocasião da inseminação artificial, até o presente momento esta tecnologia não está disponível. Entre as metodologias utilizadas para sexagem de sêmen, a única que tem resultado em significantes alterações da taxa de sexo em espermatozoides é a citometria de fluxo, baseada nas diferenças de quantidade de DNA entre espermatozoides portadores de cromossomo X ou Y (LUZ 2000, citado por ROCHA et al., 2007).

Para Hafez e Hafez (2004 c), os animais do sexo feminino possuem dois cromossomos sexuais similares (X e X), enquanto os do sexo masculino apresentam dois cromossomos

sexuais diferentes (um cromossomo X e um menor, o cromossomo Y). Os gametas (óvulo e espermatozóide) são células haplóides que contêm o cromossomo X ou Y. As células somáticas diplóides das fêmeas (sexo homogamético) possuem um par de cromossomos X, enquanto as células somáticas dos machos (sexo heterogamético) apresentam cromossomos sexuais XY. O sexo genético é determinado no oviduto por ocasião da fertilização e o sexo dos filhotes é determinado pelo cromossomo sexual dentro do espermatozóide.

O objetivo desta revisão bibliográfica é mostrar algumas fases da reprodução e da embriologia com ênfase na diferenciação e determinação sexual dos embriões.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Reprodução

A reprodução sexuada é o processo em que um novo indivíduo é gerado pela união de uma célula sexual feminina denominada óvulo (produzida pela fêmea) e outra masculina, denominada espermatozóide (produzida pelo macho). Chamamos de fertilização (ou fecundação) a conjugação dessas duas células que resulta em uma nova célula denominada zigoto. O zigoto é, portanto, uma célula cujo núcleo possui a metade do patrimônio genético da mãe e a outra metade do pai. É a partir dessa célula que um novo indivíduo será originado por sucessivas divisões celulares, seguida de diferenciação. Essa é a forma mais comum de reprodução (NISHIDA, 2006).

2.2 Anatomia do Sistema reprodutor

Conforme Granados et al. (2006), é de suma importância o conhecimento do aparelho reprodutor masculino e feminino para um melhor entendimento do funcionamento do sistema reprodutivo.

2.2.1 Sistema reprodutor da fêmea

Hafez e Hafez (2004b) descrevem que os órgãos femininos da reprodução são compostos de ovários, ovidutos, útero, cérvix uterina, vagina e genitália externa. Os órgãos genitais internos são sustentados pelo ligamento largo. Este consiste do mesovário, que suporta o ovário; do mesossalpinge, que suporta os ovidutos e do mesométrio, que suporta o útero. Em bovinos, a união do ligamento largo é dorsolateral, na região do íleo; local onde o útero dispõe-se como os cornos de um carneiro, com a convexidade dorsal e os ovários localizados próximos à pelve (Figura 1).

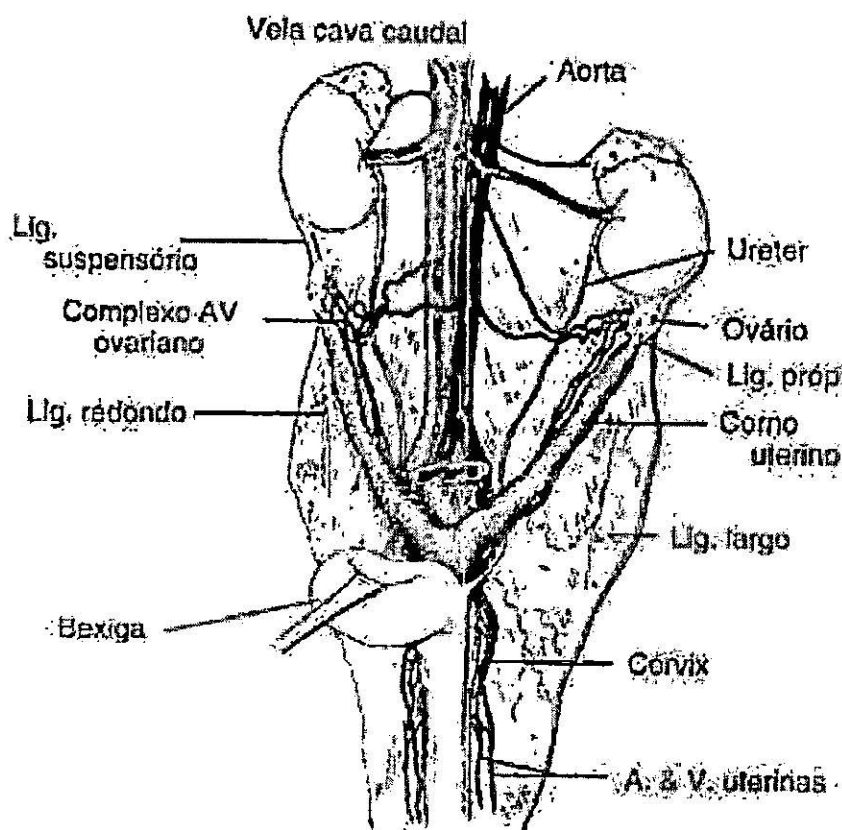


Figura 1: Anatomia do sistema reprodutor da fêmea bovina (Fonte: <http://www.mcguido.v-et.br/ovarhi16.jpg>)

Para Nishida (2006), as características sexuais primárias são essenciais para que a reprodução ocorra, e incluem as gônadas e a genitália interna (dentro do corpo), e externa (exposta).

Ovário, órgão par que produz e libera ovócitos e hormônios, possui forma, comprimento, largura, espessura, peso e estrutura variáveis de acordo com as espécies, a idade e a fase do ciclo sexual ou menstrual. Tuba uterina é um órgão que constitui de 4 segmentos: o intramural, o istmo, a ampola e o infundíbulo, histologicamente a parede tubária compreende uma mucosa. Útero é um órgão bicornes (dois cornos proeminentes), que se constitui macroscopicamente de uma porção inferior cilíndrica (colo ou cervix uterina); uma porção mediana dilatada (corpo do útero) e uma porção posterior (fundo do útero) (ALMEIDA, 1999).

Nas fêmeas, os ovários realizam a ovogênese (produção de óvulos), a síntese e secreção de estrógeno e progesterona (hormônios sexuais femininos) (NISHIDA, 2006). Além disso, os ovários também desempenham funções exócrinas (liberação de óvulos) e endócrinas (esteroidogênese) (HAFEZ e HAFEZ, 2004b).

Segundo Gonçalves (2011), a ovogênese é o processo de formação dos óvulos, a partir das ovogônias, e tem início ainda no embrião, porém, só é completado durante a puberdade. As ovogônias são células diplóides e também sofrem mitoses, ficando maiores, formando os ovócitos primários, que são cobertos por uma camada de células, pelo estroma ovariano, formando o folículo primordial. Estas células que o recobrem mudam de forma, formando o folículo primário. O folículo primário, quando possui mais de uma camada de células o recobrindo, é chamado de folículo secundário.

A meiose no oócito, que se encontra dentro do folículo primário, dá origem a duas células diplóides, o ovócito secundário e o primeiro corpúsculo polar. Estas duas células possuem tamanhos diferentes, pois o ovócito secundário recebe a maior parte do citoplasma, restando muito pouco para o corpúsculo polar. O corpúsculo polar logo se degenera e o ovócito secundário sofre a segunda meiose, que só se completa se houver fecundação, pois ela acontece até a metáfase, então a divisão é interrompida. Se for fecundado, a divisão continua e uma nova célula haplóide é formada, o 2º corpúsculo polar, que também degenera (GONÇALVES, 2011).

Os folículos pré-ovulatórios passam por três mudanças principais durante o processo ovulatório: a) maturação citoplasmática e nuclear do oócito; b) separação das células do *cumulus* do restante das células da granulosa; c) afinamento e ruptura da parede folicular externa. Após o pico ovulatório das gonadotrofinas, o fluxo sanguíneo aumenta para folículos de todas as classes. Contudo, o folículo destinado à ovulação recebe maior volume de sangue em termos absolutos (HAFEZ e HAFEZ, 2004d).

Para Granados (2006), se o óvulo for fertilizado, o corpo lúteo será mantido durante toda a gestação, mas as duas espécies diferem da fonte de progesterona para a manutenção da prenhez. A ovelha é espécie placenta-dependente, ou seja, depende da placenta para o fornecimento da progesterona. Enquanto a gestação da cabra depende do corpo lúteo.

Para Hafez e Hafez (2004b), o corpo lúteo desenvolve-se após um colapso no folículo ovulatório. A parte interna do folículo desdobra-se em pregas macro e microscópicas, que penetram na cavidade central. Essas pregas consistem de uma porção central de estroma e de grandes vasos venosos que se distendem. A progesterona é secretada pelas células luteínicas na forma de grânulos. As substâncias com atividades progestacionais são necessárias para a manutenção da gestação. Nos bovinos, há a necessidade obrigatória da atividade secretora contínua do corpo lúteo durante toda a gestação, porque a placenta não secreta progesterona.

Segundo Nishida (2006), as gônadas são órgãos sexuais primários que produzem os gametas e os hormônios sexuais. Os ovários nas fêmeas realizam a ovogênese (produção de

óvulos), a síntese e secreção de estrógeno e progesterona (hormônios sexuais femininos). A genitália interna corresponde ao conjunto de estruturas tubulares e acessórias que compõem o trato reprodutivo interno e serve para transportar os gametas e contribuir com a fertilização do óvulo. Dependendo da espécie, o trato reprodutivo interno auxilia no desenvolvimento do futuro embrião, como no caso dos mamíferos. Genitália externa situa-se na extremidade externa do trato reprodutivo interno e auxilia na fecundação (como os órgãos copulatórios dos animais que praticam a fecundação interna). Ajuda a identificar machos de fêmeas ao nascimento.

A vagina é o órgão reprodutor feminino que se constitui de uma mucosa, uma camada muscular e uma adventícia. A mucosa é formada por epitélio de revestimento poliestratificado pavimentoso, no qual se nota que a camada mais superficial pode se mostrar queratinizada dependendo do grau de desgaste ou atrito a que seja submetida o epitélio. Genitália externa (vulva) constitui-se de vestibulo, clitóris, pequenos e grandes lábios. Vestíbulo é a abertura da vagina no exterior; clitóris corresponde a um pênis rudimentar; pequenos lábios são dobras da mucosa vaginal, cujo epitélio queratinizado contém melanina e origina glândulas sebáceas; os grandes lábios exibem uma transição entre pele e mucosa, sendo a parte externa uma pele fina e a interna uma mucosa semelhante aos pequenos lábios (ALMEIDA, 1999).

2.2.2 Sistema reprodutor dos machos

Os órgãos e as glândulas do trato reprodutivo do macho produzem gameta masculino (espermatozóide ou esperma) que é liberado no trato reprodutivo da fêmea. Consistem em dois testículos no escroto, órgãos acessórios incluindo ductos e glândulas e o pênis (FRANDSON et al., 2005).

Testículos (Figura 2) possuem como função a produção dos espermatozóides e hormônios, tem seu tamanho, forma e localização variável conforme as espécies, porém, apresentam uma estrutura similar. O epidídimo é um túbulo coletor e armazenador dos testículos. Ductos deferentes ou vasos deferentes, é a continuação do sistema de ductos, que vai da cauda do epidídimo até a uretra pélvica. Escroto é um saco cutâneo que contém os testículos (REECE, 1996).

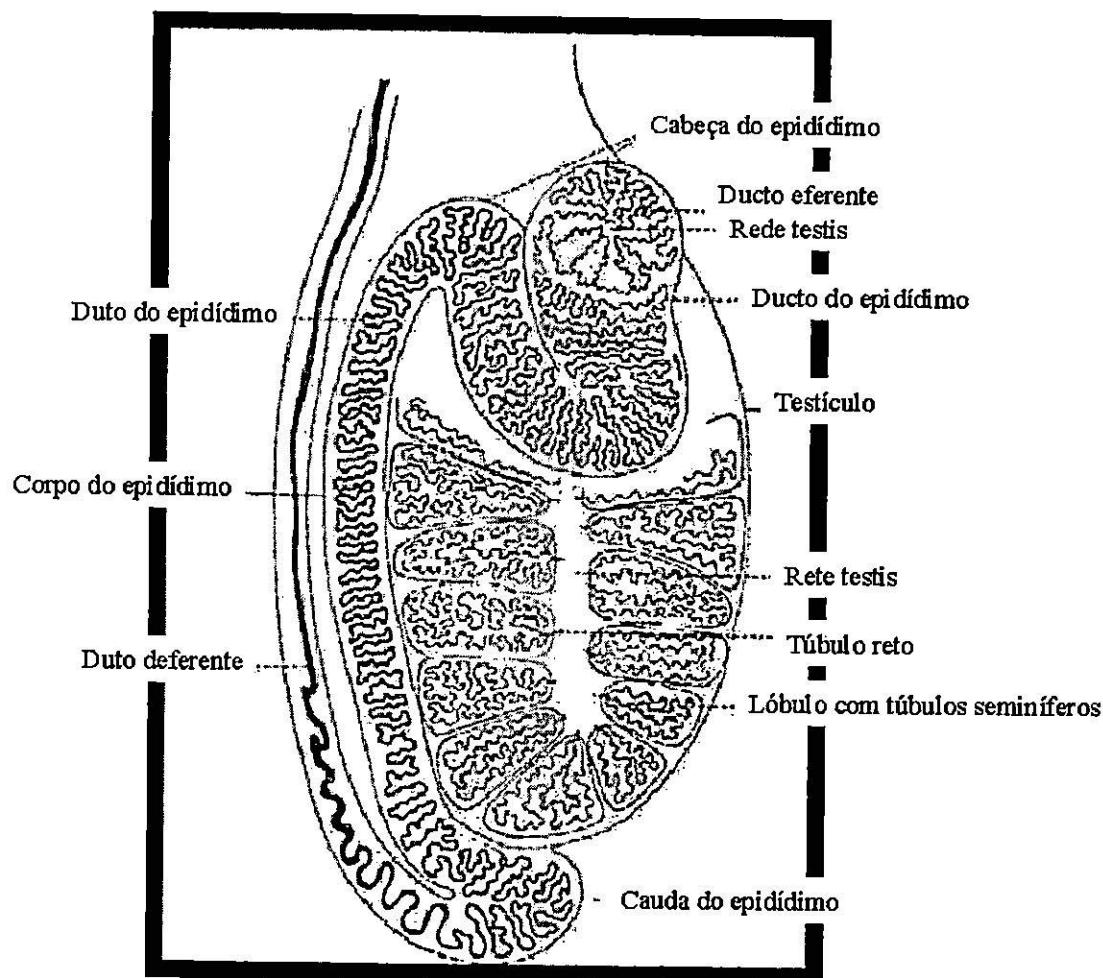


Figura 2: Anatomia testicular do bovino (Fonte: <http://www.mcguido.vet.br/anatom2.gif>)

Conforme Frandson et al. (2005), as glândulas sexuais acessórias masculinas produzem o volume do ejaculado, ou sêmen, e o meio de transporte do espermatozóide; e as glândulas vesiculares (seminais) são glândulas pares associadas à prega genital, elas se fundem com o ducto deferente ipsolateral, criando o ducto ejaculatório curto, que se esvazia dentro da uretra pélvica.

Os testículos realizam a espermatogênese (produção de espermatozoides) e a síntese e secreção de testosterona (hormônios sexuais masculinos) (NISHIDA, 2006).

Schneider (2011) define a espermatogênese como uma sequência de eventos, onde a célula primitiva masculina (espermatogônia) torna-se um espermatozóide maduro pronto para a fertilização. No período fetal, o homem já possui células germinativas (gametas, células reprodutivas), porém, imaturas. Estas células são as espermatogônias, e são células diplóides. Estas permanecem inativas até a puberdade, quando passam por sucessivas divisões mitóticas e aumentam de tamanho, tornando-se espermatócitos primários. Cada espermatócito primário passa pela primeira divisão meiótica, dando origem a dois espermatócitos secundários. Em

seguida, estes sofrem a segunda divisão meiótica, originando quatro espermátides, células haplóides. Gradualmente, as espermátides vão se tornando espermatozóides, e ficam armazenados no epidídimo e nos testículos até serem ejaculados na fêmea.

O pênis é o órgão copulatório do macho, onde a urina e o sêmen passam pela via da uretra peniana (REECE, 1996).

Segundo Frandson et al. (2005), o pênis é o órgão masculino da cópula, e pode ser dividido em três áreas gerais: a glândula, ou extremidade livre; a porção principal, ou corpo; e os dois ramos ou raízes, que se fixam ao arco isquiático da pelve.

Glândulas acessórias do pênis: são responsáveis pela produção de líquidos que nutrem os espermatozóides e estão situadas junto à uretra. Encontram-se ainda, as glândulas vesiculares, a próstata, e as glândulas bulbouretrais (GRANADOS et al., 2006).

2.3 Mecanismos da reprodução

Fertilização interna está intimamente associada com a conquista do ambiente terrestre e são típicas de répteis, aves, mamíferos e insetos. Neste tipo de fertilização o macho expele o espermatozóide para dentro do corpo feminino o que exigirá mecanismos comportamentais de aproximação e de interação física bastante sincronizada. A conquista do ambiente terrestre também proporcionou duas formas de desenvolvimento do embrião: fora do corpo feminino, mas dentro de uma casca contendo o líquido amniótico ou, dentro do corpo feminino em um útero (NISHIDA, 2006).

2.3.1 Fisiologia reprodutiva feminina

De acordo com Almeida (1999), é no interior do ovário que acontece o desenvolvimento, a maturação e a ruptura dos folículos, tendo por consequência a formação do corpo amarelo, que ao degenerar, origina o corpo albicans. O desenvolvimento e a maturação folicular sofrem a influência do hormônio FSH (hormônio folículo-estimulante)

produzidos pela adeno-hipófise. A rota do folículo maduro sofre influencia do hormônio LH (hormônio luteinizante).

Reece (1996) relata que o ciclo estral é o termo referente ao fenômeno rítmico observado em todos os mamíferos, envolvendo um regular, mas limitado período de receptividade sexual (estro), que ocorre a intervalos característicos de cada espécie. Um intervalo do ciclo é definido como o momento do surgimento de um período de receptividade sexual até o próximo (o intervalo ovulatório).

Conforme Cunningham (1999), os folículos ovulatórios são selecionados no início da luteólise, e que ovulação é causada por uma onda pré-ovulatória de gonadotrofinas induzida pelo estrógeno. No ciclo ovariano, os animais de ovulação espontânea possuem duas fases, sendo uma folicular e outra luteínica, já animais que requerem cópula para a ovulação podem ter apenas uma fase folicular.

O ciclo estral pode ser dividido em diversos estágios, como nas alterações comportamentais ou ovarianas (REECE, 1996).

1. Estro: seria o momento em que há receptividade sexual, conhecido como cio, tendo a ovulação normalmente no final desta fase;
2. Metaestro: período pós ovulatório onde o corpo lúteo começa seu desenvolvimento;
3. Diestro ou Anestro: período onde o corpo lúteo está maduro, se inicia 4 dias depois da ovulação e termina com a regressão do corpo lúteo;
4. Proestro: inicia-se após a regressão do corpo lúteo e termina no aparecimento do estro, onde há um rápido desenvolvimento folicular precede a ovulação e a receptividade sexual.

Ptaszynska (2011) coloca que os princípios do mecanismo hormonal da reprodução são basicamente os mesmos para todas as espécies de animais domésticos, embora haja algumas diferenças entre eles. O processo reprodutivo dos mamíferos é regulado por uma cascata de atividades combinadas, onde sistema nervoso central (SNC) recebe informações do ambiente em que o animal se encontra (estímulo visual olfatório, auditivo e tátil). A partir de um estímulo do SNC, os neurônios endócrinos no hipotálamo produzem o hormônio liberador de Gonadotrofinas (GnRH), estimulando as células pituitárias a secretarem o hormônio Folículo Estimulante (FSH) e o hormônio Luteinizante (LH). O FSH estimula o desenvolvimento dos folículos ovarianos. O LH estimula a síntese de androstenediona a partir do colesterol. O estradiol exerce um feedback positivo no hipotálamo e na pituitária, aumentando a frequência dos pulsos de GnRH. Assim, o FSH estimula o crescimento dos folículos ovarianos, enquanto

o LH estimula sua maturação, produção de estradiol e ovulação. O LH dá suporte à formação e à função inicial do corpo lúteo.

Em continuação do mesmo autor, um dos efeitos do estradiol é a indução dos sintomas de estro, quando o *feedback* negativo provoca a liberação do hormônio folículo estimulante (FSH) da glândula pituitária, controlando assim o desenvolvimento dos folículos. A progesterona prepara o endométrio para a nidadação, e inibe as contrações da parede uterina que podem ser danosas para a gestação. Se o oócito liberado pelo folículo durante a ovulação não é fertilizado, não são recebidos sinais de prenhez vindos do embrião. Como regressão do corpo lúteo, as concentrações de progesterona diminuem, removendo o bloqueio sobre a liberação de GnRH pelo hipotálamo. Isto provoca início de uma nova fase folicular, com desenvolvimento de um folículo pré-ovulatório (PTASZYNSKA, 2011). A Figura 3 é uma representação esquemática dos órgãos e hormônios mais importantes envolvidos na reprodução da fêmea.

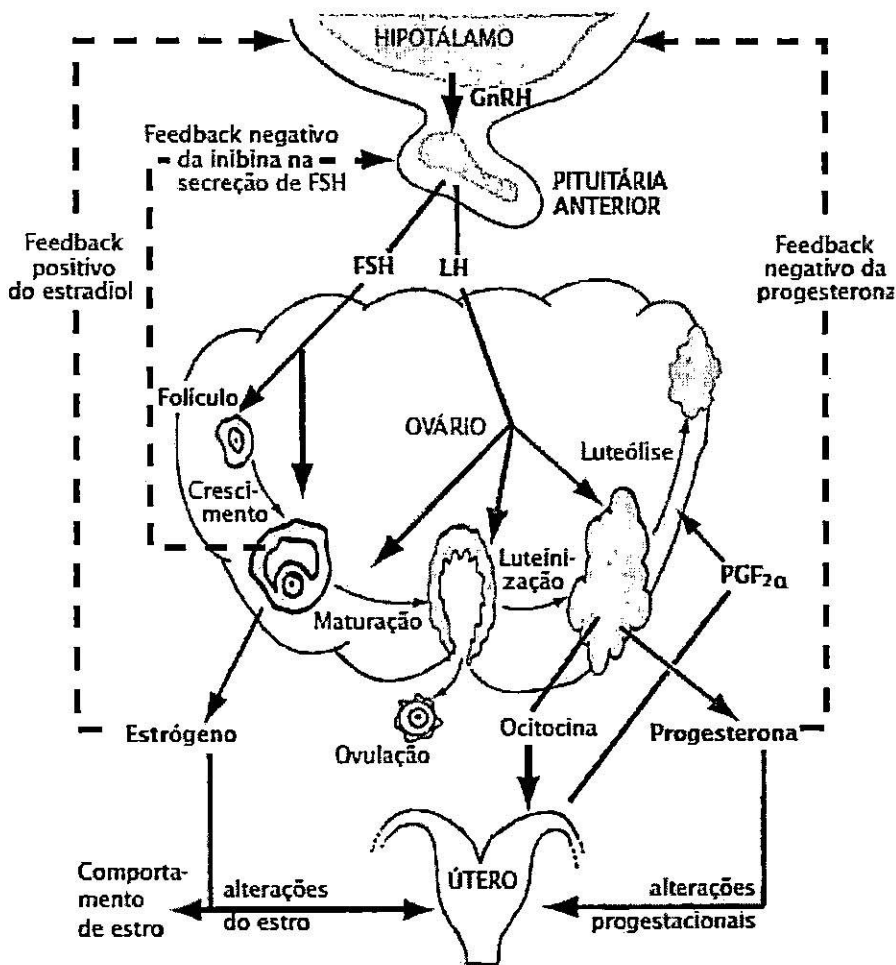


Figura 3: Controle hormonal da função reprodutiva da fêmea (Fonte: Ptaszynska, 2011)

2.3.2 Fisiologia reprodutiva masculina

De acordo com Hafez (2004), a ereção é a estimulação sexual masculina que produz a dilatação das artérias que suprem os corpos cavernosos do pênis (especialmente a crus). O pênis endurecido e reto dos ruminantes é determinado pelo músculo isquiocavernoso, que bombeia sangue dos espaços cavernosos da crus para dentro do restante do corpo cavernoso do pênis. Em uma ereção incorreta, o pênis pode entrar no vestíbulo e a introdução pode não ser concluída.

Segundo Hafez (2004), a emissão consiste da movimentação do fluido espermático ao longo do ducto deferente para a uretra pélvica, onde ele é misturado com secreções das glândulas acessórias, ele acontece por ação dos músculos lisos sob o controle do sistema nervoso autônomo. Já a ejaculação é a passagem do sêmen resultante ao longo da uretra peniana, sua estimulação elétrica na ejaculação nos animais domésticos não passa de uma imitação dos mecanismos naturais complexos. As terminações nervosas sensoriais do tegumento peniano e dos tecidos penianos profundos são essenciais no processo de ejaculação.

Conforme relata Ptaszynska (2011), os princípios da reprodução no macho apresentam um padrão similar aos da fêmea. Os hormônios responsáveis pelo desenvolvimento e manutenção das características masculinas também são as gonadotrofinas: o hormônio luteinizante (LH, que no macho pode ser denominado hormônio estimulante das células intersticiais ICSH) e o hormônio folículo estimulante (FSH) produzido pela glândula pituitária; os hormônios esteróides androgênicos, incluindo a testosterona e a inibina produzida pelos testículos. (Figura 4)

A testosterona é formada pelas células intersticiais ou de Leydig, que se encontram no interstício, entre os túbulos seminíferos. O termo androgênio é usado como sinônimo de hormônio sexual masculino de todo o corpo; além dos testículos, todos os androgênios são compostos esteróides de testosterona. Tanto nos testículos como nas supra-renais, podem ser sintetizados, porém, quando secretado pelos testículos, a maior parte deste encontra-se no sangue. A testosterona que se fixou nos tecidos é transformada dentro das células em desidrotestosterona, e é nesta configuração que a testosterona executa as suas funções intracelulares. Em geral, a testosterona é responsável pelas características distintas do corpo masculino. A produção de testosterona aumenta rapidamente na puberdade e permanece a maior parte do resto da vida (SANTOS, 2011).

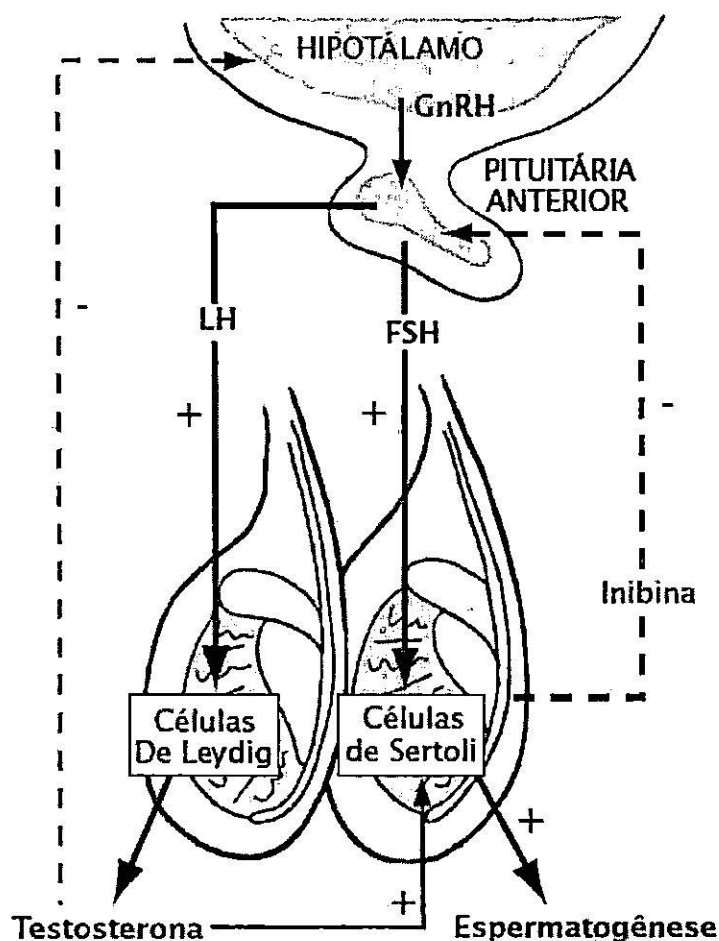


Figura 4: Controle hormonal da função reprodutiva do macho. (Fonte: Ptaszynska, 2011)

2.4 Embriologia

Luz et al. (2000), coloca que a embriologia é a parte da ciência que trata do desenvolvimento, compreendido entre a fertilização e o nascimento. O desenvolvimento é um processo ativo e organizado, que se inicia no momento em que um óvulo é fecundado por um espermatozóide, e tem seu término na morte do indivíduo.

Já Nascimento e Santos (2003), afirma que a embriologia é uma ciência que auxilia o estudo das patologias, sendo de suma importância a do sistema reprodutivo, onde são vistos os inter-sexos, a formação do sexo oposto das anomalias do desenvolvimento das genitálias, das patologias da placenta e do feto, e as neoplasias gonadais.

O sexo do feto depende dos genes herdados, da gonadogênese e da formação e maturação dos órgãos reprodutivos acessórios. Para Hafez e Hafez (2004b), o sistema reprodutivo fetal consiste de duas gônadas não diferenciadas sexualmente; dois pares de ductos; um seio urogenital; um tubérculo genital; e pregas vestibulares. Este sistema origina-se primariamente de duas cristas germinativas, na parede dorsal da cavidade, e diferencia-se em sistemas masculino e feminino.

2.4.1 Fase embrionária

Com a fertilização e o sexo genético determinado, a próxima etapa é o desenvolvimento embrionário. O embrião é uma condição que começa a partir do momento em que o zigoto começa a se multiplicar e a se diferenciar, dando origem a um novo indivíduo. Até que se inicie o processo de diferenciação, o desenvolvimento embrionário se deve principalmente à organização pré-existente do óvulo. Só quando o complemento cromossômico (paterno) se manifesta ocorrerá a diferenciação sexual. Até então, o embrião é sexualmente indiferenciado (NISHIDA, 2006).

Morfologicamente, o embrião é sexualmente neutro (não mostra caracterização específica): em humanos até a sexta e sétima semana; na quarta semana em cadelas e na sexta semana em vacas (NASCIMENTO e SANTOS, 2003).

Na embriogênese, a organização das gônadas e os modelos arquitetônicos básicos do trato genital se estabelecem precocemente. Nesse período, anatomicamente cada indivíduo é bissexual, com capacidade para desenvolver, em maior ou menor grau; características fenotípicas de macho ou de fêmea, independentemente do sexo genético. Já na gonadogênese, as determinações do sexo genético, do sexo gonadal e do sexo fenotípico são interdependentes, e cada um depende dos eventos que ocorrem nos estágios anteriores. Durante o estágio indiferenciado das gônadas, todos os indivíduos são potencialmente capazes de desenvolver-se parcialmente, ou mesmo completamente, em machos e fêmeas, independentemente do sexo genético (NASCIMENTO e SANTOS, 2003).

A clivagem do zigoto ocorre por uma divisão onde resulta de células filhas chamadas blastômeros. Na segunda divisão, produz quatro blastômeros. Já a terceira divisão produz oito blastômeros (Figura 5). As divisões da clivagem são sempre mitóticas, com cada célula-filha (blastômeros) recebendo total sortimento de cromossomos. Essas etapas se denominam

de Segmentação. Enquanto os blastômeros estão encaixados na zona pelúcida, eles devem acomodar-se a si mesmo. Uma vez formado uma quantidade de 9 a 16 blastômeros, passa a ser conhecido como mórula. Durante o processo de compactação, os blastômeros se expandem e eclodem formando blastocistos. A formação de junções compactas resulta em um selo permeável que permite que o fluido extracelular passe para dentro dos blastocistos sem um escoamento e assim, forma-se a blastocele (Figura 6). Ocorre a formação de aberturas que separa as células do contato com o ambiente materno, fazendo com que esta população de células forme uma massa interna, a qual, uma dá origem ao próprio embrião, e a outra dá origem ao trofoblasto, que forma o cõrion (HAFEZ e HAFEZ, 2004a).

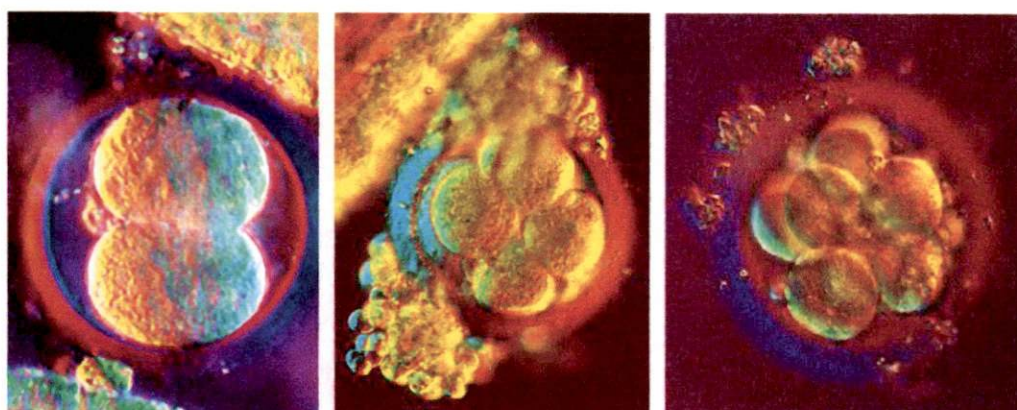


Figura 5: Divisão celular. (Fonte: <http://paginas.ulusofona.pt/p1445/anatomia/archive/Determina%C3%A7%C3%A3o%20e%20diferencia%C3%A7%C3%A3o%20sexual.pdf>)

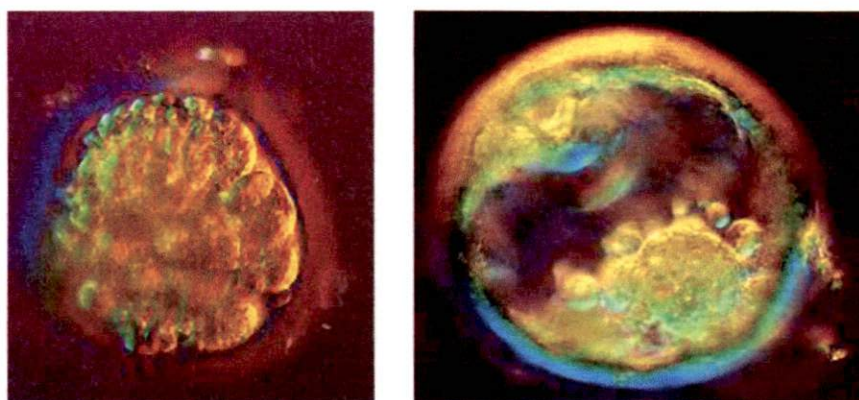


Figura 6: Mórula e Blástula com Blastocele. (Fonte: <http://paginas.ulusofona.pt/p1445/anatomia/archive/Determina%C3%A7%C3%A3o%20e%20diferencia%C3%A7%C3%A3o%20sexual.pdf>)

Segundo Geisert e Malayer (2004), o blastocisto é formado por consequência do desenvolvimento de firmes junções intracelulares da mórula durante a compactação, e é seguido pelo acúmulo de fluido na cavidade central chamada blastocele. A massa celular

interna desenvolve três lâminas germinativas primárias do embrião (ectoderma, mesoderma, endoderma) durante o processo chamado de Gastrulação, essas lâminas sofrem diferenciação conforme finalidade específica.

Schneider (2011) relata que há três camadas germinativas que dão origem aos primórdios de todos os tecidos e órgãos. Seus principais derivados são:

- Ectoderma: sistema nervoso central (SNC); Sistema nervoso periférico (SNP); epiderme e seus apêndices (pêlos e unhas), glândulas mamárias e subcutâneas; hipófise, meninges.

- Mesoderma: tecido conjuntivo; cartilagem, ossos, músculo estriado e liso; coração; sangue, vasos e células linfáticas; rins; ovários; testículos e membranas de revestimento das cavidades corporais (pleuras, pericárdio.)

- Endoderma: revestimento epitelial dos tratos gastrointestinal e respiratório; glândulas tireóides e paratireóides; timo; fígado; pâncreas.

Conforme Schneider (2011), o processo de neurulação, que ocorre durante o desenvolvimento da notocorda, faz com que as células do ectoderma subjacente (células que estão sobre a notocorda) se espessam, originando a placa neural, que futuramente originará o sistema nervoso central. Por volta do 18º dia, a placa neural sofre uma invaginação no seu eixo central, formando o sulco neural, que possui pregas neurais laterais, mais proeminentes na região cefálica. Estas pregas são os primeiros sinais do desenvolvimento do encéfalo. Ao fim da terceira semana, as pregas se fundem, transformando a placa neural em um tubo neural, que é aberto nas regiões caudal e cefálica. Logo, as extremidades do ectoderma se fundem recobrimdo todo o tubo neural e também, a parte posterior do embrião. Em seguida, o ectoderma superficial se diferencia na epiderme da pele. A neurulação termina com o fechamento das extremidades caudal e cefálica do tubo.

2.5 Determinação e diferenciação sexual

Para Lammoglia (2011), no início do nosso desenvolvimento embrionário somos bissexuais, isto é, não temos o sexo diferenciado. Até a sexta semana, o embrião é neutro, suas gônadas são indiferenciadas.

Para Domenice et al. (2002), o processo de desenvolvimento sexual nos mamíferos se inicia no momento da fertilização (Figura 7) com o estabelecimento do sexo cromossômico do zigoto e é determinado pela interação de genes, fatores transcricionais, hormônios e receptores hormonais. Neste processo, a determinação sexual e a diferenciação sexual ocorrem como etapas distintas e sequenciais. O evento primário consiste na determinação do sexo gonadal que define o desenvolvimento da gônada embrionária indiferenciada no sentido masculino ou feminino.

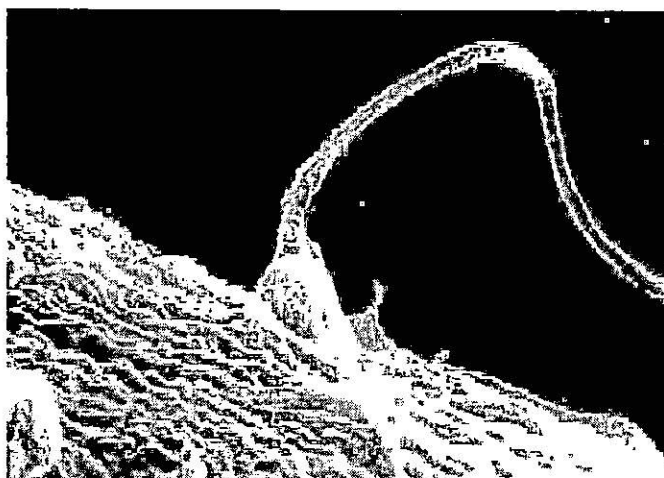


Figura 7: Momento em que o espermatozóide fertiliza o óvulo. (fonte: <http://paginas.uluso-fona.pt/p1445/anatomia/archive/Determina%C3%A7%C3%A3o%20e%20diferencia%C3%A7%C3%A3o%20sexual.pdf>)

Conforme Nishida (2006), os machos e as fêmeas são indivíduos que contribuem de modo diferente para a produção de um novo ser. Eles apresentam diferenças genéticas, morfológicas, fisiológicas e comportamentais que denominamos coletivamente de dimorfismo sexual.

Mais recentemente, tem sido observado que a dose gênica também desempenha um papel muito importante no processo normal de formação e desenvolvimento gonadal. Vários genes localizados nos cromossomos sexuais e autossomos participam dos processos de determinação sexual. Uma complexa cascata gênica é formada por uma série de genes que interagem em fases restritas ou em diferentes momentos do desenvolvimento do tecido gonadal (DOMENICE et al., 2002).

Segundo Nascimento e Santos (2003), a determinação do sexo divide em três níveis: sexo genético, sexo gonadal e sexo fenotípico. Sendo que o sexo genético é determinado durante a fertilização, quando um espermatozóide X ou Y penetra um óvulo, formando um zigoto de constituição XX ou XY. A determinação do sexo gonadal ocorre depois quando a

gônada indiferenciada se transforma em ovário ou testículo, sendo influenciado pelo sexo genético. O sexo fenotípico depende do desenvolvimento de estruturas que se origina do seio urogenital.

Para Hafez e Hafez (2004c), os animais do sexo feminino possuem dois cromossomos sexuais similares (X e X), enquanto os do sexo masculino apresentam dois cromossomos sexuais diferentes (um cromossomo X e um menor, o cromossomo Y). Os gametas (óvulo e espermatozóide) são células haplóides que contêm o cromossomo X ou Y. As células somáticas diplóides das fêmeas (sexo homogamético) possuem um par de cromossomos X, enquanto as células somáticas dos machos (sexo heterogamético) apresentam cromossomos sexuais XY. O sexo genético é determinado no oviduto por ocasião da fertilização e o sexo dos filhotes é determinado pelo cromossomo sexual dentro do espermatozóide.

Shneider (2011) coloca como um dos principais processos de iniciação fetal a meiose, que é um tipo de divisão que só ocorre em células germinativas destinadas à reprodução. É dividida em duas fases, sendo que na primeira, denominada reducional: a célula-mãe, com 46 cromossomos, dá origem a duas células com 23 cromossomos cada uma. Durante esta primeira fase, os cromossomos homólogos, ou seja, que possuem a mesma forma e constituição, se junta formando pares. Com exceção dos cromossomos que determinam o sexo, um núcleo de célula diplóide contém 2 versões similares de cada cromossomo autossomo, um cromossomo paterno e 1 cromossomo materno. Essas duas versões são chamadas de homólogas. Quando o DNA é duplicado pelo processo de replicação, cada um desses cromossomos é replicado dando origem às cromátides que são, então, separadas durante a anáfase e migram para os pólos celulares. Desta maneira, cada célula filha recebe uma cópia do cromossomo paterno e uma cópia do cromossomo materno. Neste estágio, duas cromátides homólogas sofrem uma ruptura na mesma altura, e os dois pedaços trocam de lugar. Como os cromossomos são portadores de genes, ocorre uma recombinação genética, contribuindo para o aumento da variabilidade genética.

Conforme colocado por Domenice et al. (2002), a diferenciação sexual em mamíferos envolve uma cascata de genes que atuam desde a diferenciação da gônada bipotencial em testículo ou ovário (determinação sexual) até a diferenciação dos genitais internos e externos, também bipotenciais em masculinos ou femininos nas primeiras semanas de vida intrauterina. A diferenciação das genitálias externa e interna no sexo masculino é um processo dependente da produção de hormônios sexuais pelo testículo, enquanto que no sexo feminino, esse processo independe dos hormônios ovarianos. Portanto, a diferenciação sexual é gônada dependente apenas nos machos.

Os cromossomos homólogos são estruturalmente semelhantes e contêm genes similares que expressam os mesmos caracteres, com a exceção de um par, cujos cromossomos não são homólogos e são conhecidos como cromossomos sexuais. Geneticamente, o que distingue um homem de uma mulher é o par de cromossomos sexuais: a mulher possui o par XX e o homem o par XY. Nas demais espécies de mamíferos, o sexo genético é determinado também dessa maneira (NISHIDA, 2006).

Segundo Domenice et al. (2002), o desenvolvimento do fenótipo masculino (incluindo descida testicular até a bolsa escrotal) requer a produção normal de três hormônios testiculares: HAM (hormônio anti-mülleriano), andrógenos e Ins13. Por outro lado, no sexo feminino, a ausência da produção desses hormônios determina a diferenciação sexual feminina. Neste complexo processo de diferenciação sexual estão envolvidas numerosas enzimas, hormônios e seus receptores e fatores de transcrição. Defeitos nos genes que codificam a síntese de quaisquer destas substâncias determinam o aparecimento das anomalias da diferenciação sexual.

O sexo genético influencia diretamente o desenvolvimento da gônada indiferenciada, já que ocorre no momento da fertilização. Os mecanismos dessa influência têm como base o cromossomo Y que forma decisivamente a diferenciação sexual masculina. Atualmente tem sido trabalhada uma proposta onde o fator de diferenciação testicular (TDF) é codificado por um gene localizado no segmento curto do cromossomo Y (SRY), correspondente à região de determinação do sexo do cromossomo Y (NASCIMENTO e SANTOS, 2003).

Para Nishida (2006), os testículos então só produzem espermatozóides haplóides portadores de cromossomo Y ou X, enquanto os ovários produzem somente óvulos haplóides contendo o cromossomo X. Se o óvulo for fertilizado por um espermatozóide Y, o zigoto (2n) será geneticamente masculino, mas se for fertilizado por um portador X, será feminino. Assim o sexo genético é determinado no momento da fertilização, conforme explicado na Figura 8.

Conforme Nascimento e Santos (2003), o desenvolvimento da genitália masculina ocorre de forma “ativa”, onde os ductos mesonéfricos (de Wolff) são estimulados e ocorre o crescimento através do hormônio (testosterona), e o seio urogenital se diferencia nos órgãos genitais masculinos externos sob estímulos da diidrotestosterona. Com isso, as células indiferenciadas de suporte, presentes na gônada masculina, secretam o MIF (fator inibidor de Müller), que por sua vez inibe o desenvolvimento dos ductos paramesonéfricos (de Müller). O desenvolvimento da genitália feminina ocorre de forma “passiva”, sendo que na ausência de estímulo da testosterona, não há o desenvolvimento dos ductos mesonéfricos, ocorrendo o desenvolvimento dos ductos paramesonéfricos por não haver produção de MIF. Sendo assim,

o seio urogenital dá origem os órgãos sexuais femininos externos, devido à ausência da diidrotestosterona.

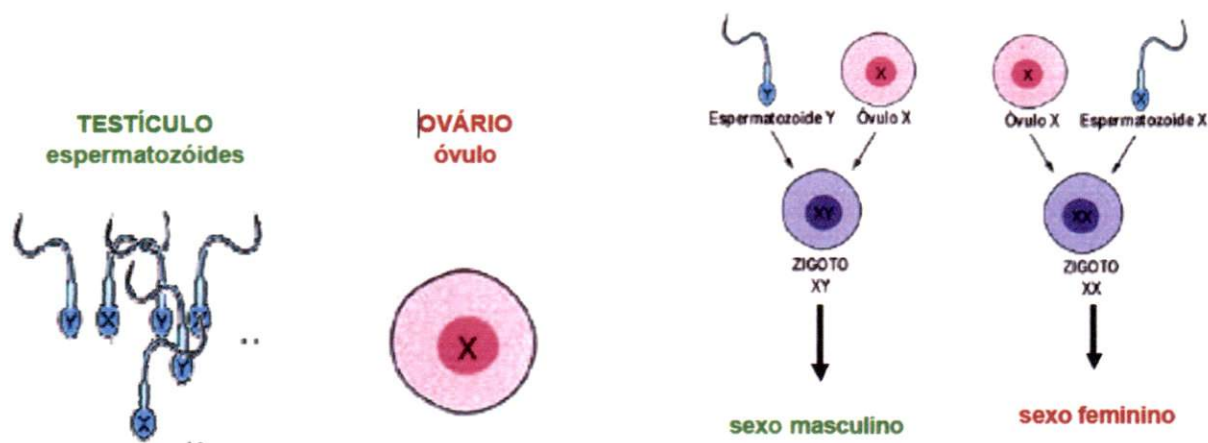


Figura 8: Determinação do sexo no momento da fecundação (Fonte: <http://ebook-browse.com/apostilas-de-fisiologia-i-pdf-d143971633>).

O desenvolvimento dos testículos embrionários apresenta semelhanças com os dos ovários; as células germinais migram para a crista genital e povoam os cordões sexuais, que se formam de uma invaginação da superfície epitelial (celômico). As células de Sertoli (contrapartida das células da granulosa da fêmea) desenvolvem-se a partir dos cordões sexuais, e células de Leydig (contrapartida feminina das células da teca) desenvolvem-se do mesênquima da crista genital. Uma diferença fundamental no desenvolvimento ovariano é que a invaginação dos cordões sexuais no macho se continua para dentro da medular da gônada embrionária, onde são feitas conexões com cordões medulares dos mesonefros, ou rins primitivos (CUNNINGHAM, 1999).

Nishida (2006) relata que se o embrião seja XX, as gônadas se transformarão espontaneamente em ovários, os canais de Muller e o tubérculo genital em estruturas femininas; enquanto que os canais de Wolff se degeneram (por causa da ausência de andrógenos). Além disso, o cérebro embrionário feminino será programado para controlar a hipófise de forma diferente dos machos com a chegada da puberdade. Somente com a maturidade sexual a sexualidade se completará mais tarde, na puberdade.

Conforme Nascimento e Santos (2003), há cinco estágios na diferenciação sexual:

1. Determinação cromossômica do sexo (XX ou XY);
2. Deformação de gônada bissexual;

3. Diferenciação gonadal;
4. Diferenciação da genitália interna;
5. Diferenciação da genitália externa.

Segundo Lammoglia (2011), no processo de diferenciação celular os cromossomos podem apresentar o hermafroditismo, que são onde os indivíduos que possuem, ao mesmo tempo, os órgãos sexuais internos masculinos e femininos, isto é, possuem testículos e ovários. Os testículos e os ovários juntos formam uma gônada mista denominada ovotestis. Em outros casos há testículos de um lado do corpo e um ovário do outro. Outra situação é aquela em que existe um ovotestis de um lado e um testículo ou um ovário do outro. Os órgãos sexuais presentes no hermafrodita condicionam o desenvolvimento das respectivas genitálias.

Lammoglia (2011) relata que quando há um testículo e um ovário, do lado do testículo desenvolve-se um canal deferente e do lado do ovário um oviduto. Cromossomicamente, encontram-se hermafroditas do sexo feminino e masculino e outros são mosaicos, isto é, indivíduos que apresentam algumas células masculinas e outras femininas. O pseudo-hermafroditismo feminino é uma situação intersexual em que os indivíduos são cromossomicamente femininos, mas apresenta às genitálias externas masculinizadas, já no pseudo-hermafroditismo masculino, o recém-nascido é cromossomicamente do sexo masculino, e o desenvolvimento das genitálias internas e externas apresentam diferentes graus de feminilização.

2.6 Biotecnologias na sexagem de embrião

Passaglia e Chaves (2011) colocam que a sexagem de embriões por análise de DNA, agregada à produção *in vitro*, constituem ferramentas importantes que permitem intensificar e acelerar o melhoramento genético de animais de alto valor zootécnico. Através destas tecnologias, o criador pode escolher o sexo desejado ainda na fase embrionária, diminuindo custos com receptoras, tratamentos hormonais para sincronização, manejo e locação de espaço na propriedade. O Brasil tem se destacado como um dos países que mais aplica comercialmente, e em larga escala as diversas biotecnologias utilizadas na reprodução animal.

Para Luz et al. (2000), afirma que nos embriões, os métodos mais precisos de sexagem (acurácia de 100%) são invasivos, ou seja, requerem que uma pequena amostra de células seja

removida do embrião. Estes métodos envolvem a visualização dos cromossomos sexuais a partir da realização de cariótipo, ou da detecção de uma sequência de DNA, específica do cromossomo Y, após amplificação em termociclador por PCR ("polymerase chain reaction").

Carvalhais et al. (2005) sugere em seu trabalho que o desenvolvimento de métodos simples e precisos para a sexagem de embriões pré-implantatórios é importante para a otimização do manejo reprodutivo bovino em programas de seleção e melhoramento; cujo o objetivo é implantar um método de sexagem de embriões bovinos por reação em cadeia da polimerase, (PCR) e assim avaliar a distribuição de machos e fêmeas em função da qualidade e idade dos embriões produzidos. Sugere também que a eficiência na determinação do sexo seja inicialmente testada com DNA genômico extraído a partir de sangue de bovinos de sexo conhecido e otimizadas as concentrações de DNA. O método implantado é simples, preciso, rápido e econômico, podendo ser utilizado para a sexagem de embriões bovinos a transferir para vacas receptoras em fresco ou após congelação.

Neste caso Rocha et al. (2007), quando cita Luz (2000), mostra que o controle da proporção dos sexos nas espécies domésticas é potencialmente de grande interesse comercial para a agropecuária. Embora a sexagem de espermatozóides possa ser a maneira mais vantajosa para a seleção do sexo nos animais por ocasião da inseminação artificial, até o presente momento esta tecnologia não está disponível. Entre as metodologias utilizadas para sexagem de sêmen, a única que tem resultado em significantes alterações da taxa de sexo em espermatozóides é a citometria de fluxo, baseada nas diferenças de quantidade de DNA entre espermatozóides portadores de cromossomo X ou Y.

Carmo et al. (2011), colocam que a sexagem fetal não é uma ferramenta utilizada rotineiramente na espécie eqüina, devido à dificuldade encontrada na localização do tubérculo genital entre os dias 55 a 70 de gestação. Por sua vez, a avaliação ultra-sonografia da gônada e da genitália externa do feto, com o propósito de sexagem, vem apresentando resultados promissores, e consiste em um exame por via retal realizado entre os dias 110 – 150 de gestação, período em que notaram com uma margem de maior segurança e acurácia, associada a facilidade de execução.

Hafez e Hafez (2004c) coloca que existem apenas dois métodos laboratoriais que parecem ser válidos para a separação de espermatozóides X e Y, humanos e/ou animais, além de serem passíveis de repetição e clinicamente aplicáveis: separação de albumina com 70 a 80% de espermatozóides Y e filtração com Sefadex, com 70 a 75% de espermatozóides X; sendo assim, as separações dos espermatozóides X e Y baseia-se no seguinte:

- Diferenças de peso, densidade e tamanho dos cromossomos X e Y, resultantes de diferenças no tamanho dos diversos componentes dos espermatozóides.
- Diferenças na expressão haplóide dos cromossomos X e Y, resultantes de diversidades na natureza dos componentes espermáticos: alocação defeituosa dos cromossomos sexuais seja nos gametas ou após a fertilização; produtos de clivagem iniciais, que resultarão em indivíduos com células somáticas com apenas um cromossomo X (XO, YO é letal) ou um cromossomo X ou Y extra (XXX e XXY ou XYY).

Segundo Nicolau Neto (2011), a sexagem de embriões é um avanço tecnológico que permite identificar o sexo do embrião imediatamente após ser colhido do útero da doadora. O criador tem a opção de selecionar a implantação ou congelamento dos embriões de "fêmeas" e/ou "machos", e economizar com os custos altos proveniente da gestação dos mesmos, aumentando ainda mais o número de fêmeas, filhas de suas melhores matrizes, ou de machos como seus melhores reprodutores, com possibilidade de atingir o seu equilíbrio de produção rapidamente.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Além dos gametas, há muito mais diferenças entre os machos e as fêmeas: o sistema reprodutor que confere características sexuais primárias, essenciais para a reprodução; e as características sexuais secundárias, que não são essenciais, mas ajudam na reprodução. A técnica de sexagem de embriões pode ser bastante eficaz. Sendo capaz de alavancar a produção de bovinos para os pecuaristas interessados em maximizar o número de progênie. A estreita relação da sexagem e transferência de embriões com a produção animal têm alterado o comércio tradicional de reprodutores, elevando substancialmente o valor das fêmeas geneticamente superiores.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, J. M. **Embriologia veterinária comparada**. Guanabara koogan. 1999. 176 p.

CARMO, M. T., et. al. **Avaliação ultra-sonográfica da gônada fetal em equinos: uma nova alternativa para sexagem**. Botucatu, SP – Brasil. Disponível em: < http://www.abraveq.com.br/eventos_pdf/ix_conf_08%20Sexagem_fetal_ABRAVEQ.pdf. >. Acesso em: 15 de nov. de 2011.

CARVALHAIS, I. et. al. **Implementação de um método simples e preciso para sexagem de embriões bovinos**. Ciências Veterinárias, Estação Zootécnica Nacional, 2005 Vale de Santarém, Portugal. Disponível em: <<http://horta.0catch.com/aemh/carvalhais%20spcv%2005.pdf>. >. Acesso em: 15 de nov. de 2011.

CUNNINGHAM, J.G. **Tratado de Fisiologia Veterinária**, 2ª Ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 1999. 528p.

DOMENICE, S. et al. **Aspectos molecular da determinação e diferenciação sexual**. 2002. Disponível em:< <http://www.scielo.br/pdf/abem/v46n4/12799.pdf>>. Acesso em: 17 de nov. de 2011.

FRANDSON, R. D. et.al. **Anatomia e fisiologia dos animais de fazenda**. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara koogan. 2005. 160 p.

GEISERT, R. D.; MALAYER, J. R. Implantação. In: HAFEZ, E. S. E. e HAFEZ, B. **Reprodução animal**., 7ª Ed. Barueri –SP: Manole, 2004. p. 127-140.

GONÇALVES, F. S. Ovulogênese (Ovogênese) Disponível em: < <http://www.info-escola.com/biologia/ovulogenese-ovogenese/> >. Acesso em: 11 de nov. de 2011

GRANADOS, L. B. C. et. al. **Aspectos gerais da reprodução de caprinos e ovinos**. Campos dos Goytacazes. 2006. Disponível em: < <http://www.capritec.com.br/pdf/reproducaoodeovinoscaprinos.pdf>. >. Acesso em: 15 de nov. de 2011.

HAFEZ, B.; HAFEZ, E. S. E. Anatomia da Reprodução feminina. In: HAFEZ, E. S. E. e HAFEZ, B. **Reprodução animal**. 7ª ed. Barueri –SP: Manole, 2004b. p 13- 29.

HAFEZ, B.; HAFEZ, E. S. E. Cromossomos X e Y: Espermatozóides Transportadores In: HAFEZ, E. S. E. e HAFEZ, B. **Reprodução animal**. 7ª ed. Barueri –SP: Manole, 2004c. p. 395 – 398.

HAFEZ, B.; HAFEZ, E. S. E. Fertilização e clivagem. In: HAFEZ, E. S. E. e HAFEZ, B. **Reprodução animal**. 7ª ed. Barueri –SP: Manole, 2004c.p. 111 – 126.

HAFEZ, E. S. E. Anatomia da reprodução masculina. In: HAFEZ, E. S. E. e HAFEZ, B. **Reprodução animal**. 7ª ed. Barueri –SP: Manole, 2004. p. 03- 12.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. Foliculogênese, Maturação ovocitária e ovulação. In: HAFEZ, E. S. E. e HAFEZ, B. **Reprodução animal**. 7ª ed. Barueri –SP: Manole, 2004d. p. 69 – 82.

LAMMOGLIA, D. A. **A diferenciação sexual ou desenvolvimento do sexo**. Disponível em: < <http://www.colegiolumen.net/paginas/comunicados/DOMINGOS%20ANGELO%20LAMMOGLIA/A%20DIFERENCIA%C7%C3O%20SEXUAL%20OU%20O%20DESENVOLVIMENTO%20DO%20SEXO.pdf> > Acesso em: 15 de nov. de 2011.

LUZ, M. R. et al. Sexagem de embriões bovinos fecundados in vitro pela técnica de PCR multiplex. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, São Paulo, v. 37, n. 6, 11p. 2000.

NASCIMENTO, E. F.; SANTOS R. L. **Patologia da reprodução dos animais domésticos**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara koogan. 2003. 137 p.

NICOLAU NETO, J. **Inovação tecnológica em pequenas empresas**. Disponível em: < <http://w-atson.fapesp.br/PIPEM/Agrarias/zootec1.htm> > Acesso em: 17 de nov. de 2011.

NISHIDA, S. M. **Ciclo de vida dos animais. Teia do saber**, 2006. Disponível em: < <http://ebookbrowse.com/apostilas-de-fisiologia-i-pdf-d143971633> >. Acesso em: 25 de out. de 2011.

PASSAGLIA, P. G.; CHAVES, A. H. Sexagem de embriões bovinos: Atualidades sobre a aplicação da técnica de sexagem aliada ao PCR (Polymerase Chain Reaction), desde o campo até a comercialização de embriões sexados. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento - nº 37** Disponível em: < <http://www.biotecnologia.com.br/revista/bio37/sexagem.pdf> >. Acesso em: 17 de nov. de 2011.

PTASZYNSKA, M. (Ed.); **Compêndio de Reprodução Animal**. Intervet International bv. Disponível em: < http://www.abspecplan.com.br/upload/library/Compendio_Reproducao.pdf >. Acesso em: 11 de nov. de 2011

REECE, W.O. **Fisiologia de animais domésticos**. São Paulo: Roca, 1996. 351 p.

ROCHA, J. R. et al. As vantagens da sexagem de embriões em bovinos. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v.4, n. 08, jan. de 2007. Disponível em:<<http://www.revista.inf.br/veterinaria08/revisao/18.pdf>>. Acesso em: 15 de nov. de 2011.

SANTOS, P. J. M. **Endocrinologia** Disponível em: < http://www.fade.up.pt/fisiologiageral/_arquivo/endocrinologia.pdf > Acesso em: 20 de nov. de 2011

SCHNEIDER, C. **Apostila de embriologia e genética embriologia**. Disponível em: < <http://www.ebah.com.br/content/ABAAAkV0AC/apostila-embriologia-genetica> >. Acesso em: 15 de nov. de 2011.