# CORRELAÇÃO DA MORFOLOGIA ESPERMÁTICA EM PROGRAMAS DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL CONVENCIONAL EM NOVILHAS E VACAS DA RAÇA NELORE

José de Oliveira Guerra Neto[1], Marcelo George Mungai Chacur[2], Francielle Alves Caldato[3], Aline Aparecida da Silva[3], Caliê Castilho[2]

[1]Discente do Curso de Medicina Veterinária da UNOESTE – Presidente Prudente-SP. [2]Docente do Curso de Medicina Veterinária e Mestrado em Ciência Animal da UNOESTE – Presidente Prudente-SP. [3]Discente do Mestrado em Ciência Animal da UNOESTE – Presidente Prudente-SP.

**RESUMO**

O número de doses por prenhez dá um indício da fertilidade da vaca, do sêmen e da qualidade da técnica de inseminação. Portanto, o objetivo deste estudo foi verificar a relação entre a avaliação física e morfológica de sêmen criopreservado em Central com a quantidade de doses utilizadas por prenhez. Quatro touros da raça Nelore foram desafiados em 557 novilhas e 1 touro Red Angus em 156 vacas, ambas da raça Nelore. Para número de doses inseminantes necessárias por prenhez, obteve-se: para os defeitos espermáticos menores (0,053; P>0,05), motilidade espermática (0,433; P>0,05), vigor espermático (0,932; P>0,05), concentração (0,111; P>0,05), número de espermatozoides viáveis (0,637; P>0,05), defeitos espermáticos maiores (1; P>0,05) e defeitos totais (0,623; P>0,05). Para o porcentual de prenhez, não houve correlação significativa com: motilidade espermática (0,218; P>0,05), vigor espermático (0,252; P>0,05), concentração espermática (1; P>0,05), número de espermatozoides viáveis (0,637; P>0,05), percentagem de patologias maiores (0,395; P>0,05), percentagem de patologias menores (0,740; P>0,05) e percentagem de patologias totais (0,872; P>0,05). Para outros parâmetros, houve correlação significativa de motilidade espermática e vigor (0,041; P<0,05), e motilidade espermática e número de espermatozoides viáveis (0,042; P<0,05). Conclui-se no presente trabalho que não houve correlação significativa entre os parâmetros avaliados no sêmen pós-descongelamento, quantidade de doses inseminantes por prenhez e porcentagem de prenhez pelo número de doses utilizadas. Houve correlação significativa entre motilidade espermática e vigor espermático, bem como motilidade espermática e percentagem de espermatozoides viáveis.

**Palavras-chave:** inseminação artificial convencional; touro; sêmen.

**ABSTRACT**

The number of doses per pregnancy gives an indication of the fertility of the cow, the quality of semen and insemination. Therefore, the goal of this study was to investigate the relationship between the physical and morphological assessment of semen cryopreserved in Central with the number of doses per pregnancy and pregnancy rate by the number of doses used. Four Nelore bulls were challenged in 557 heifers and one bull in 156 Red Angus cows, both Nellore. For number of insemination doses required per pregnancy, tended to correlate significantly with lower amount of pathologies (0.053, P> 0.05), with no significant correlation between sperm motility (0.433, P> 0.05), spermatic vigor (0.932 , P> 0.05), concentration (0.111, P> 0.05), number of viable sperm (0.637, P> 0.05), percentage of major diseases (1, P> 0.05) and percentage of pathologies Total (0.623, P> 0.05). For pregnancy rate, no significant correlation with sperm motility (0.218, P> 0.05), spermatic vigor (0.252, P> 0.05), sperm concentration (1, P> 0.05), number of viable sperm (0.637, P> 0.05), percentage of major diseases (0.395, P> 0.05), percentage of pathologies smaller (0.740, P> 0.05) and percentage of total conditions (0.872, P> 0.05 ). For other parameters, there was a significant effect of sperm motility and (0.041, P <0.05), and sperm motility and number of viable sperm (0.042, P <0.05). The conclusion of this study that there was no significant correlation between the andrological examination of post-thaw semen, number of insemination doses needed for pregnancy and pregnancy rate by the number of doses, with only significant correlation between sperm motility and vigor, and sperm motility and percentage of viable sperm.

**Keywords:** bulls; conventional artificial insemination; semen.

## INTRODUÇÃO

A necessidade de se desenvolver sistemas de criação, que possibilitem o melhoramento do potencial produtivo e reprodutivo das diversas espécies domésticas, fez surgir várias biotécnicas. A inseminação artificial (IA), dentre essas, foi a primeira biotécnica a ser utilizada, revolucionando os sistemas de produção animal (ARRUDA, 2000). Neste sentido, o mérito genético e a fertilidade do touro têm um grande impacto sobre o desempenho do rebanho e a renda gerada (LOWMAN et al., 1994; GARCIA, 2000).

Um programa de IA deve incorporar vários itens como a acurada detecção de cios, a correta manipulação e aplicação do sêmen e o momento adequado para a IA em relação ao momento da ovulação. A detecção do cio é considerada a mais importante e a principal causa da falha dos programas de inseminação artificial. Uma detecção ineficiente de cio resulta em perdas importantes na reprodução. A correta manipulação do sêmen também é um fator fundamental no programa de IA eficiente. Para isso é necessário trabalhar com inseminadores capacitados e qualificados (SAVERO, 2009).

Após a IA os espermatozoides depositados no trato genital da fêmea devem atravessar o útero, passar para o oviduto, pela junção útero-tubárica, interagir com o epitélio do oviduto e fertilizar o ovócito (SARTORI, 2004). Porém é necessário que os espermatozoides apresentem características físicas e morfológicas adequadas para que ocorra a fertilização. Por meio da avaliação do sêmen, após o processo de congelamento, o profissional faz inferências sobre a qualidade dos espermatozoides, formando um conceito sobre a qualidade da amostra analisada (SAVERO, 2009).

A criopreservação do sêmen bovino teve grandes avanços na década de 40, após a descoberta da função crioprotetora do glicerol, entretanto, mesmo com as melhores técnicas atuais de preservação, obtém-se, em média, 50% de viabilidade da população espermática (WATSON, 1995).

Os parâmetros mais utilizados para avaliação espermática são as características físicas: total de espermatozoides na amostra, motilidade espermática progressiva, vigor, número de espermatozoides viáveis e morfologia espermática: defeitos maiores, menores e totais. Porém, estes parâmetros, têm se mostrado limitados quanto à capacidade de predizer o potencial de fertilidade do sêmen. Um único teste é pouco eficaz pelo fato de que cada espermatozoide apresenta múltiplos compartimentos sub-celulares com diferentes funções a serem avaliadas (SANTOS, 2003).

O objetivo deste estudo foi verificar a relação entre a avaliação física e morfológica do sêmen criopreservado em Central com o número de doses utilizadas por prenhez e a porcentagem de prenhez pelo número de doses utilizadas.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O presente experimento foi realizado durante a estação de monta, na primavera e verão, no período de 05 de novembro de 2010 a 29 de janeiro de 2011, no município de Brasilândia, Mato Grosso do Sul. As doses de sêmen dos touros foram utilizadas para inseminar, respectivamente: touro A (Nelore) 138 novilhas da raça Nelore, touro B (Red Angus) 130 vacas da raça Nelore, touro C (Nelore) 149 novilhas da raça Nelore, touro D (Nelore) 29 novilhas da raça Nelore e touro D (Nelore) 35 novilhas da raça Nelore. Foram utilizadas ao todo 451 fêmeas (351 novilhas e 130 vacas), as novilhas com idade entre 23 a 24 meses; e as vacas não lactantes, as quais foram submetidas à inseminação artificial (IA) convencional, com observação de cio usando sêmen congelado em Central, proveniente de 4 Nelores e 1 Red Angus.

As fêmeas foram mantidas em pastagens de *Brachiaria humidicola* com acesso a água e sal mineral *ad libitum*.

O sêmen foi utilizado de acordo com a categoria selecionada, ou seja, as novilhas da raça Nelore foram inseminadas com touros da mesma raça (n= 351) e as vacas com touro Red Angus (n= 130). Após a chegada do sêmen, 30 dias antes da IA, as partidas foram analisadas, conforme com as normas do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 1998). Os parâmetros avaliados estão presentes na tabela 1.

**Tabela 1**. Valores mínimos preconizados pelo CBRA (1998) para análise do sêmen no pós-descongelamento.

| Parâmetros | Valores mínimos |
|---|---|
| **Motilidade progressiva (%)** | 30 |
| **Vigor (1-5)** | 3 |
| **Espermatozoides com motilidade progressiva (x $10^6$/dose)** | 10 |
| **Motilidade após TTR* (%)** | 20 |
| **Vigor após TTR (%)** | 2 |
| **Defeitos maiores individuais (%)** | 5 |
| **Defeitos menores individuais (%)** | 10 |
| **Defeitos maiores totais (%)** | 20 |
| **Defeitos menores totais (%)** | 30 |
| **Defeitos totais (%)** | 30 |

* Teste de termorresistência Rápido (46°C/30 min).

As observações de cio foram feitas utilizando-se 32 rufiões em rodeios realizados duas vezes ao dia, sendo que 20 deles ficavam com as fêmeas e os outros 12 rufiões ficavam de madrinhas para as fêmeas identificadas em cio e prontos para substituir rufiões se necessário. A observação de cio teve duração de 60 minutos, em lotes de no máximo 270 fêmeas, com 5 observadores. Foi adotado o método de Trimberg e Davis (1943), onde as inseminações foram realizadas no período da tarde (18:00h) nas fêmeas que manifestaram cio durante o período da manhã (6:00h) e realizadas no período da manhã (7:00h) nas fêmeas que manifestaram cio durante o período da tarde do dia anterior (17:00h).

As fêmeas identificadas e inseminadas no primeiro cio eram marcadas com tinta verde e no segundo com tinta vermelha, para facilitar sua identificação. O diagnóstico de gestação foi realizado por palpação retal a partir de 45 dias após as últimas inseminações.

Para correlacionar os parâmetros de motilidade, vigor, concentração espermática, número de espermatozoides viáveis, porcentagens de defeitos maiores, menores e totais com o número de doses por prenhez e a porcentagem de vacas prenhes, foram calculados coeficientes de correlação pelo teste não-paramétrica de Spearman estimados por ponto e por intervalo com 95% de confiança (PAGANO; GAUVREAU, 2004). Para todas as análises adotou-se o valor de 5% de significância.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi realizada observação de cio em 156 vacas e 557 novilhas da raça Nelore, das quais 130 vacas (83,33%) e 351 novilhas (63,01%) foram detectadas em cio e inseminadas. Independente do touro utilizado nas vacas a taxa de concepção foi 85,38 %, ou seja, das 130 fêmeas detectadas em cio e inseminadas, 111 foram diagnosticadas prenhes, já a taxa de prenhez foi 71,15%, ou seja, das 156 fêmeas

totais, 111 emprenharam, sendo a relação dose/prenhez média de 1,58 doses. Nas novilhas a taxa de concepção foi 83,76%, ou seja, das 351 fêmeas detectadas em cio e inseminadas, 294 foram diagnosticadas como prenhes, a taxa de prenhez foi 52,74%, ou seja, das 557 fêmeas totais, 294 foram diagnosticadas emprenharam e o número de doses por prenhez foi 1,44, tabela 2.

**Tabela 2**. Taxa de concepção, de prenhez e número de doses por prenhez em vacas e novilhas da raça Nelore inseminadas com observação de cio, independente do touro utilizado.

| | Taxa de Concepção (%) | Taxa de Prenhez (%) | Nº Doses /Prenhez |
|---|---|---|---|
| **Vacas** | 85,38 (130/111) | 71,15 (156/111) | 1,58 |
| **Novilhas** | 83,76 (351/294) | 52,78 (557/294) | 1,44 |

De acordo com Vilela e Artunduaga (2007), a forma mais correta de se avaliar a eficiência reprodutiva de um rebanho é a taxa de prenhez. Dois índices compõem essa taxa: o primeiro é a taxa de inseminação e o segundo é a taxa de concepção (GARCIA, 2008). Taxa de inseminação é o percentual de vacas inseminadas em um período de 21 dias em função do total de vacas (CAMPOS, 2007).

Na Tabela 3, observa-se que o sêmen do touro C (Nelore) apresentou motilidade espermática de 50%, vigor 4, concentração de espermatozoides 3, defeitos maiores 1%, defeitos menores 10%, defeitos totais 11% no espermograma, sendo necessárias 1,33 doses inseminantes por prenhez. O touro D (Nelore) obteve índice de motilidade espermática 30%, vigor 3, concentração de espermatozoides 1, defeitos maiores 3%, defeitos menores 22%, defeitos totais 25% no espermograma, sendo necessárias 1,75 doses inseminantes por prenhez.

**Tabela 3**. Laudo de Análise de sêmen congelado bovino e número de doses de sêmen utilizadas por prenhez.

| TOURO | A | B* | C | D | E | CBRA |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Motilidade (%)** | 35 (+) | 40 (+) | 50 (+) | 30 (=) | 30 (=) | **30** |
| **Vigor (1-5)** | 3 (=) | 4 (+) | 4 (+) | 3 (=) | 2 (-) | **3** |
| **Concentração (1-3)** | 3 (+) | 1 (-) | 3 (+) | 1 (-) | 2 (=) | **10** |
| **Defeitos Maiores (%)** | 5 (-) | 4 (-) | 1 (-) | 3 (-) | 22 (+) | **20** |
| **Defeitos Menores (%)** | 16 (-) | 23 (-) | 10 (-) | 22 (-) | 10 (-) | **30** |
| **Defeitos Totais (%)** | 21 (-) | 27 (-) | 11 (-) | 25 (-) | 32 (+) | **30** |
| **Dose/Prenhez** | 1,53 | 1,58 | 1,33 | 1,75 | 1,41 | |

**A, C, D, E** = Sêmen de touros de raça Nelore. **B*** = Sêmen de touro da raça Red Angus.

Observa-se que nos touros B (Red Angus) e D (Nelore) foram utilizadas maior quantidade de doses por prenhez. O touro E (Nelore) apresentou uma porcentagem de defeitos totais de 32%, porém obteve-se bom índice dose/prenhez de 1,41; possivelmente

devido à boa resistência e viabilidade do sêmen no aparelho genital da fêmea.

Segundo Den Daas (1997), a motilidade espermática é fundamental para que os espermatozoides alcancem o ambiente uterino e o local de fertilização, sendo o critério mais usado na avaliação de sêmen antes e depois do processamento em laboratório. Entretanto, os resultados das avaliações microscópicas dependem de diversos fatores, como o meio utilizado para diluir o sêmen, as taxas de diluição, a temperatura e o tempo de realização durante a avaliação. Sabe-se que espermatozoides imóveis não são capazes de fertilizar. Correa et al. (1997) não observaram diferença na motilidade espermática progressiva pós-descongelamento no sêmen de touros com baixa e alta fertilidade. Por outro lado, segundo Del Rei et al. (2004), diferentes provas são utilizadas para a avaliação e controle de qualidade do sêmen em touros, sendo que a motilidade progressiva das células espermáticas e a motilidade espermática total são usadas para a avaliação do sêmen pós-descongelamento devido a alta correlação com a fertilidade.

Alguns autores têm demonstrado os efeitos da morfologia espermática sobre a fertilidade no campo. Correa et al. (1997) avaliaram sêmen de bovino congelado/descongelado e verificaram relação de 0,59 entre fertilidade e morfologia espermática (porcentagem de espermatozoides normais), de modo que os menores valores estiveram associados à baixa fertilidade (75,9%) e os maiores, ao alto nível de fertilidade (82,2%). Casagrande et al. (1979) observaram correlação negativa entre os defeitos totais e os defeitos maiores com a fertilidade (-0,48 e -0,5, respectivamente) ao utilizarem sêmen congelado em rebanhos de diferentes regiões brasileiras.

Segundo Den Dass (1992), a relação entre algumas características seminais (avaliadas em laboratório) e a fertilidade tem sido inconsistente, em decorrência do número definido de espermatozoides por inseminação, às vezes tão elevado que reduz as chances da população espermática com a alteração detectada influenciar os resultados de fertilidade.

Na Tabela 4, observa-se que não houve correlação significativa entre o número de doses inseminantes necessárias por prenhez e defeitos espermáticos menores (0,053; P>0,05), não havendo correlação significativa entre número de doses inseminantes necessárias por prenhez e motilidade espermática (0,433; P>0,05), número de doses inseminantes necessárias/prenhez com vigor espermático (0,932; P>0,05), número de doses inseminantes/prenhez com concentração (0,111; P>0,05), número de doses inseminantes/prenhez com número de espermatozoides viáveis (0,637; P>0,05), número de doses inseminantes/prenhez com percentagem de defeitos maiores (1; P>0,05) e número de doses inseminantes/prenhez com percentagem de defeitos totais (0,623; P>0,05).

**Tabela 4**. Correlações entre parâmetros avaliados nas amostras de sêmen e número de doses empregadas para obtenção de prenhez (ND/P).

| Comparação | r* | *p** |
|---|---|---|
| **ND/P x Motilidade** | -0,461 | 0,433 |
| **ND/P x Vigor** | -0,052 | 0,932 |
| **ND/P x Concentração** | -0,790 | 0,111 |
| **ND/P x Defeitos Maiores** | 0 | 1 |
| **ND/P x Defeitos Menores** | 0,872 | 0,053 |
| **ND/P x Defeitos Total** | 0,3 | 0,623 |

r* = Coeficiente de correlação ; *p** = Significância.

*Correlação significativa (P<0,05); Correlação não significativa (P>0,05)*

Na Tabela 5, observa-se que não houve correlação significativa entre percentual de prenhez com motilidade espermática (0,218; P>0,05), percentual de prenhez com vigor espermático (0,252; P>0,05), percentual de prenhez com concentração (1; P>0,05), percentual de prenhez com número de espermatozoides viáveis (0,637;P>0,05), percentual de prenhez com percentagem de defeitos maiores (0,395;P>0,05), percentual de prenhez com percentagem de defeitos menores (0,740; P>0,05) e percentual de prenhez com percentagem de defeitos totais (0,872;P>0,05).

**Tabela 5**. Correlações entre parâmetros na avaliação das amostras de sêmen e número de percentual de prenhez pela quantidade de doses utilizadas (PP).

| Comparação | r* | *p** |
|---|---|---|
| **PP x Motilidade** | 0,666 | 0,218 |
| **PP x Vigor** | 0,632 | 0,252 |
| **PP x Concentração** | 0 | 1 |
| **PP x Patologias Maiores** | -0,5 | 0,391 |
| **PP x Patologias Menores** | -0,205 | 0,740 |
| **PP x Patologias Totais** | -0,1 | 0,872 |

r* = Coeficiente de correlação ; *p** = Significância.

*Correlação significativa (P<0,05); Correlação não significativa (P>0,05)*

As novilhas foram observadas com relação à manifestação dos cios por 3 ciclos consecutivos, antes de serem inseminadas. Segundo Romano (1997), em novilhas, a maturidade sexual (fase em que o animal atinge a capacidade reprodutiva) é atingida pela ocorrência de três ciclos estrais consecutivos, em intervalos regulares acrescidos dos sinais externos de comportamento de estro.

Na Tabela 6, observa-se que houve correlação significativa entre os parâmetros motilidade espermática e vigor de (0,041; P<0,05), e motilidade espermática. Com relação ao vigor, Chacur (1999), também observou que o vigor espermático é um parâmetro de grande importância a ser avaliado nos ejaculados, o vigor representa a intensidade do movimento espermático. A importância da motilidade espermática também foi observado por Silva (1993) onde observaram que o sêmen de boa qualidade apresenta dois importantes atributos: motilidade progressiva e baixa taxa de espermatozoides anormais.

**Tabela 6**. Estimativas pontuais dos coeficientes de correlação não paramétrica de Spearman (r), entre parâmetros observados no exame andrológico, sendo eles motilidade/vigor, motilidade/ número de espermatozoides viáveis e quantidade de dose por prenhez/ número de patologias menores.

| Comparação | r* | *p** |
|---|---|---|
| **Motilidade x Vigor** | 0,892 | 0,041 |

r* = Coeficiente de correlação ; *p** = Significância. *Correlação significativa (P<0,05); Correlação não significativa (P>0,05)*

Na Tabela 7, observa-se que no touro A (Nelore) uma quantidade maior de doses por prenhez (1,53) foi necessária, com taxa de prenhez de 81,15% valor menor em relação aos touros Nelore C e E que necessitaram de 1,33 e

1,41 doses por prenhez com índices de 86,57% e 82,85% de taxa de prenhez, respectivamente.

**Tabela 7.** Número total de animais inseminados, número de doses utilizadas, total de prenhez, porcentagem de prenhez por dose utilizada, porcentagem de prenhez pelo número de animais inseminados e quantidade de dose por prenhez em novilhas e vacas inseminadas com observação de cio.

| Touro | Total fêmeas | Doses Utilizadas | Total de Prenhez | %Prenhez/ dose | % Concepção | Dose/ Prenhez |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **A** | 138 | 171 | 112 | 65,5% | 81,15% | 1,53 |
| **B*** | 130 | 175 | 111 | 63,4% | 85,38% | 1,58 |
| **C** | 149 | 172 | 129 | 75,0% | 86,57% | 1,33 |
| **D** | 29 | 42 | 24 | 57,1% | 82,75% | 1,75 |
| **E** | 35 | 41 | 29 | 70,7% | 82,85% | 1,41 |
| **Total** | 481 | 601 | 405 | 55,34% | 83,74% | 1,52 |

**B*** = Touro Red Angus que Inseminou vacas da raça Nelore.

Segundo Vilela (2007), um dos principais índices a serem avaliados para certificar-se da eficiência reprodutiva de um rebanho é a taxa de prenhez, pois toma-se como nota uma elevada detecção de estros, e a concepção após o animal permanecer em um período voluntário de espera. A taxa de prenhez representa o número de vacas que ficaram prenhes em relação ao número de vacas aptas a ficarem prenhes em intervalo de 21 dias, entre a taxa de inseminação e a taxa de concepção (GARCIA, 2008). De acordo com Campos (2007), o índice reflete o resultado de dois parâmetros, que devem ser avaliados independentemente: a taxa de inseminação e a taxa de concepção.

Novos estudos devem ser realizados para verificar a relação entre as características qualitativas e quantitativas do sêmen com os índices reprodutivos.

## CONCLUSÕES

Conclui-se que não houve correlação significativa entre a avaliação do sêmen no pós-descongelamento, quantidade de doses inseminantes por prenhez e porcentagem de prenhez pela quantidade de doses utilizadas. Houve correlação significativa entre motilidade espermática e vigor espermático.

## REFERÊNCIAS

ARRUDA, R.P. **Avaliação dos efeitos de diluidores e crioprotetores para o espermatozóide eqüino pelo uso demicroscopia de epifluorescência, citometria de fluxo, análises computadorizadas da motilidade (CASA) e da morfometria (ASMA).** 2000. 121 f. Tese (Livre Docência) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

CAMPOS, E. **Avaliando o desempenho reprodutivo de matrizes leiteiras**. 2007. Disponível em: <http://www.rehagro.com.br/siterehagro/publicacao. do?cdnoticia=1585>. Acesso em: 20 mai. 2011.

CASAGRANDE, J.F.; PINHEIRO, L.E.L.; ALMEIDA, C.A. et al. Patologia espermática agrupada segundo BLOM (1972) na avaliação de sêmen para congelação. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.3, n.2, p.19-23, 1979.

CBRA. **Manual para exame andrológico e avaliação do sêmen animal**. 2. ed. Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1998. 49 p.

CHACUR, M.G.M. **Estresse térmico em touros Bubalinos Bubalus Bubalis avaliação das características fisiológica da reprodução.** 1999. Tese (Doutorado)-Faculdade de Medicina

Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

CORREA, J.R.; PACE, M.M.; ZAVOS, P.M. Relationships among frozen-thawed sperm characteristics assessed via the routine semen analysis, sperm functional tests and fertility of bulls in an artificial insemination program. **Theriogenology**, v.48, p.721-731, 1997. doi.org/10.1016/S0093-691X(97)00296-3

DEL REI, A.J.M. et al. Effect of espermatic motility and speed on de semen fertility of bulls. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION, 15., 2004, Porto Seguro. **Anais…** Belo Horizonte: Brazilian College of Animal Reproduction, 2004. v. 1, p. 191.

DEN DAAS, N.J.H.G. Laboratory assessment of semen characteristics. **Animal Reproduction Science**, v.28, p.87- 94, 1992. doi.org/10.1016/0378-4320(92)90095-U

DEN DAAS, N.J.H.G. **Prediction of bovine male fertility** . Lelystad: Institute for Animal Science and Health, 1997. 168p. Thesis (Doctor in Reproduction Science) – Institute for Animal Science and Health.

GARCIA, A.R. **Utilização do semen resfriado e da administração de GnRH na inseminação artificial em tempo fixo de novilhas nelore (*Bos taurus taurus*)**. 2000. 21p. Dissertação (mestrado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Pirassununga.

GARCIA, P.H.M. **Como incrementar a eficiência reprodutiva em rebanhos leiteiros**. 2008. Disponível em: <http://www.zootecniabrasil.com.br/sistema/modules/ smartsection/makepdf.php?itemid=47>. Acesso em: 28 jul. 2010.

LOWMAN, B.G.; SCOTT, N.A.; SCOTT, P.R. An evaluation of some breeding management options in beef herds in the United Kingdom. **Veterinary Record**, v.135, n.1, p.9-12, 1994. doi.org/10.1136/vr.135.1.9

PAGANO, M.; GAUVREAU, K. **Princípios de bioestatística**. 2. ed. São Paulo: Pioneira Thomson Learneing, 2004.

ROMANO, M.C. **Efeito do nível nutricional sabre a antecipação da idade à puberdade e caracterização de dinâmica folicular nos períodos pré e pós-púbere em novilhas Nelore.** 1997. 103p. (Tese em medicina veterinária) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

SANTOS, G.C.J. **Viabilidade de sêmen eqüino congelado em meios diluidores de diferentes composições**. 2003. 58 p. Dissertação (Mestrado Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

SARTORI, R. Fertilização e morte embrionária em bovinos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32 (Supl.), p.35-50, 2004.

SAVERO, N.C. Influência da qualidade do sêmen bovino congelado sobre a fertilidade. **A Hora Veterinária**, ano 28, n.167. p.36-39, 2009.

SILVA, A. **Capacidade reprodutiva do touro de corte**. Funções, anormalidades e fatores que a influenciam. Campo Grande: EMBRAPA, 1993. (Relatório).

TRIMBERG, W.; DAVIS, H.P. **Conception rate in dairy cattle by artificial insemination at various stages of estrus**. Nebraska: Research Bull University of Nebraska, 1943. 14p.

VILELA, R.; ARTUNDUAGA, M.A. **Eficiência reprodutiva, patologias reprodutivas e protocolos de reprodução**. 2007. Disponível em: <http://www.rehagro.com.br/siterehagro/publicacao.do?cdnoticia=1434>. Acesso em: 20 mai. 2011.

WATSON, P.F. Recent developments and concepts in the cryopreservation of spermatozoa and the assessment of their postthawing function. **Reproduction Fertility and Development**, v.7, p.871-891, 1995.