

IATF COM SÊMEN SEXADO APRESENTA MELHOR TAXA DE CONCEPÇÃO EM NOVILHAS QUE A TETF DE EMBRIÕES A FRESCO.

FTAI WITH SEXED SEMEN HAS A BETTER CONCEPTION RATE IN HEIFERS
THAN THE FRESH EMBRYO TETF

Maiara Eloisa Bracht¹
Bruno de Borba¹
Marciel Rohden¹
Jônatas Carissimi Lovatel²
Fernanda de Souza Rosa³

Resumo: O uso de biotécnicas reprodutivas como IATF e TE buscam cada vez mais aperfeiçoar o manejo reprodutivo da atividade leiteira visto que é necessário otimizar o tempo de concepção para aumentar a produtividade, contudo em novilhas leiteiras nenhum trabalho de literatura compara as taxas de prenhez das mesmas por IATF e TETF. Portanto objetiva-se com o presente estudo avaliar as taxas de concepção quando utilizada a IATF comparada a TETF em novilhas leiteiras. Foram selecionadas 101 fêmeas nulíparas, todas em sistema compost barn, com forma de manejo, nutrição e protocolos sanitários idênticos. Do total de fêmeas, 70 fizeram parte do grupo IATF e 31 fizeram parte do grupo TETF. Os embriões utilizados foram coletados de doadoras da propriedade, inseminadas com sêmen sexado. O diagnóstico de gestação foi realizado a partir de 30 dias após a IA com sêmen sexado e 21 dias após TE. A taxa de concepção aos 30 dias de novilhas submetidas a IATF com sêmen sexado foi maior que as submetidas a TETF com embrião a fresco. Observa-se no estudo que a taxa de prenhez foi menor na TE comparada a IA, pois a técnica de TE tende a ser mais difícil de ser realizada em novilhas. Ademais, a taxa de perdas embrionárias da TE em nosso estudo foi relativamente maior comparada as perdas na IATF (6% vs. 4%) que está associada as condições de manipulação podendo causar alterações epigenéticas que prejudicam o desenvolvimento do embrião, o que pode exceder a sua capacidade adaptativa a essas condições. A utilização da IATF e TETF possuem resultados positivos, sendo que a técnica de IATF permitiu taxas de concepção superiores a TETF em novilhas leiteiras.

Palavras chave: Biotecnologias; Produtividade; Prenhes.

Introdução:

O Brasil é o terceiro maior produtor de leite do mundo, envolvendo mais de um milhão de produtores e gerando milhões de empregos (EMBRAPA, 2020). Com o objetivo de melhorar a produtividade e a lucratividade, o produtor busca pela máxima eficiência na propriedade leiteira, para isso são adotadas as biotecnologias

¹ Acadêmico (a) do Curso de Medicina Veterinário do Centro Universitário Fai-Uceff

² Médico Veterinário

³ Docente do Curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário Fai-Uceff



reprodutivas (Consentini et al., 2021). Dentre as biotecnologias, a IATF e a TE podem ser empregadas no manejo reprodutivo de novilhas leiteiras. Podendo atingir a puberdade com menos de um ano, as novilhas leiteiras devem estar acima de 300 kg para entrarem em protocolos reprodutivos (Sartori, 2006).

O desenvolvimento das novilhas é um ponto crítico sobre o seu desempenho futuro, já que, novilhas que parem com idade avançada (>25 meses) não apresentam melhoria na produtividade da primeira lactação, incumbindo em dias adicionais de vida improdutiva e maior custo de alimentação. Tal implicação instiga o produtor a utilizar de biotecnologias para maximizar o desempenho produtivo e reprodutivo (Ribeiro et al., 2012).

O emprego de protocolos de IATF em novilhas permite solucionar alguns dos entraves relacionados a baixa taxa de serviço, dificuldade de detecção de estro e carência de mão-de-obra na fazenda (Consentini et al., 2021). Na bovinocultura leiteira, o sexo do bezerro é um fator essencial sobre o desempenho produtivo e econômico da propriedade (Pinheiro Neto et al., 2015), assim, a utilização de sêmen sexado tende a ser recomendada para uso em novilhas, pois elas possuem maior fertilidade e menor desafio (Mallory et al., 2013). A transferência de embriões (TE), por sua vez, é outra biotecnologia amplamente difundida que permite o aprimoramento do sistema de produção em um curto período de tempo (Barusseli et al., 2008).

A utilização de sêmen sexado para a produção dos embriões permite reduzir o tempo de melhoramento e aumentar o ganho genético por geração, assim, é possível obter um produto gerado sem desperdício de embriões (OSES et al., 2009). Até o presente momento, nenhum trabalho de literatura, objetivou comparar as taxas de prenhez de novilhas leiteiras por IATF e TETF, justificando a realização deste trabalho.

A maioria dos trabalhos compara essas duas biotécnicas em vacas, primíparas e multíparas (Bonilla et al., 2014), em vacas repetidoras de serviço (Rodrigues et al., 2007) ou em vacas nos meses quentes do ano (Baruselli et al.,



2020), onde a taxa de prenhez da TETF sempre é superior, porém se trata de animais com desafios reprodutivos, o que em geral, não se observa em novilhas. Portanto, objetivou-se com o presente trabalho, avaliar as taxas de concepção quando utilizada a IATF comparada a TETF em novilhas leiteiras.

Materiais e métodos:

O experimento foi realizado em uma fazenda na cidade de Vacaria - RS, durante o período de abril a julho de 2023. Foram selecionadas 101 fêmeas nulíparas, todas em sistema compost barn, com forma de manejo, nutrição e protocolos sanitários idênticos, idades aproximadas (12 a 15 meses), da raça Holandês, com escore de condição corporal (ECC) médio de 3 (escala de 1 a 5), com peso aproximado de 350 kg e altura média de cernelha de 1,30 m. A dieta dos animais foi constituída de silagem de milho e pré secado de azevém, com água e sal mineral ad libitum. As fêmeas, passaram por uma avaliação ginecológica prévia para verificação do seu sistema reprodutivo (útero e ovários), com auxílio de ultrassonografia (US). Do total de fêmeas, 70 fizeram parte do grupo IATF, no qual os animais receberam um dispositivo intravaginal de progesterona (P4) de terceiro uso de 2g (Sincrogest®) e administração de 2,0 mg de benzoato de estradiol (Syncrogen®). No dia 7 (D7) foi realizado a administração de 750 μg de cloprostenol (Cioton®). No dia 8 (D8) a retirada do dispositivo de P4, administração de 1 mg de cipionato de estradiol (Cipion®) e mais uma administração de 750 µg de cloprostenol (Cioton®). No dia 10 (D10) foi realizada a inseminação artificial em tempo fixo, com sêmen sexado, 56h após a retirada do dispositivo de P4. As administrações hormonais foram todas 17 realizadas via intramuscular (IM), com exceção da P4 que foi utilizada a partir do dispositivo intravaginal de liberação lenta, todas no mesmo horário.



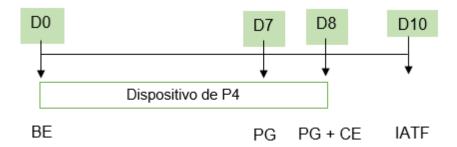


Figura 01: Ilustração do protocolo PEPE. No D0 foi administrado 2 mg de BE associado ao dispositivo de P4. No D7 foi administrado 750 μg de cloprostenol. No D8 foi retirado o dispositivo, administrado 750 μg de cloprostenol e 1mg de CE. No D10, foi realizada a IATF.

O grupo TETF foi submetido ao mesmo protocolo utilizado no grupo IATF, porém a TETF foi realizada no D16 após avaliação da presença e lado do corpo lúteo (CL). Para este grupo foram selecionadas 31 receptoras de 45 protocoladas. Essas fêmeas apresentavam idade, peso e altura ideal para entrarem em protocolos reprodutivos, sendo avaliado seu sistema reprodutivo através de US. Os embriões utilizados na TETF foram coletados de doadoras da propriedade, inseminadas com sêmen sexado e classificados como MI, MO, BI, BL, BX, BE e quanto a qualidade em GI, GII e GIII e distribuídos aleatoriamente entre as receptoras selecionadas.

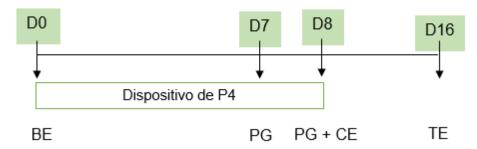


Figura 2: Protocolo de sincronização das receptoras de embriões. No D0 é inserido o dispositivo de P4 e administrado 2,0 mg de BE por via IM. No D7 é realizado a administração de 750 μg de cloprostenol. No D8 é retirado o dispositivo de P4, administrado uma dose de 1 mg de CE e 750 μg de cloprostenol. No D16 as



receptoras são avaliadas por US para posteriormente realizar a transferência dos embriões.

O diagnóstico de gestação (DG) foi realizado através do auxílio de US, através do aparelho Kaixin RKU10® sendo realizados a partir de 30 dias após a IA e 21 dias após TE, identificando vesícula embrionária, embrião e batimentos cardíacos, e reconfirmadas aos 60 dias.

Resultados e discussões

A taxa de concepção aos 30 dias de novilhas submetidas a IATF com sêmen sexado foi maior que as submetidas a TETF com embrião a fresco (58,6% vs. 51,61%, respectivamente). A perda embrionária avaliada aos 60 dias foi maior no grupo TETF que IATF (6% vs. 4%, respectivamente) (Figura 1).

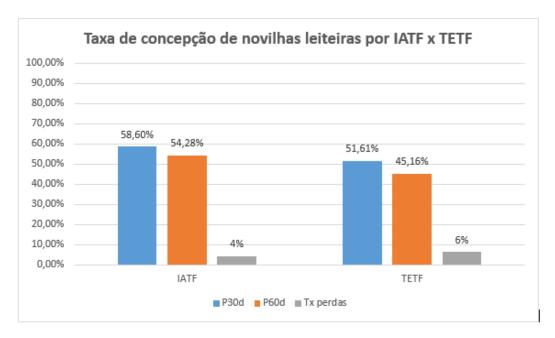


Figura 3: Ilustração das taxas de concepção aos 30 e 60 dias e perdas embrionárias comparando IATF com sêmen sexado e TETF de embriões transferidos a fresco em novilhas leiteiras.



Em novilhas a taxa de prenhez quando se utiliza sêmen sexado na IATF varia de 16% a 54% (Seidel Júnior e Schenk, 2008; Crepaldi et al., 2009; Mallory et al., 2013; Pinheiro Neto et al., 2015; Guimarães et al., 2016; Ré, 2018). Já quando se utiliza a TETF de embriões produzidos in vivo varia de 29% a 53% (Baruselli et al., 2003; Schenk, Suh e Seidel Júnior, 2006; Pardo, 2008; Hayakawa et al., 2009; Pessoa et al., 2014). Percebe-se que os resultados do nosso estudo são semelhantes aos descritos na literatura para ambas as técnicas.

No entanto quando se compara IATF e TETF as taxas de prenhez da TETF sempre são superiores para vacas. Até o presente momento, nenhum trabalho de literatura, objetivou comparar as taxas de prenhez de novilhas leiteiras por IATF e TETF, justificando a realização deste trabalho. A maioria dos trabalhos compara essas duas biotécnicas em vacas, primíparas e multíparas (Bonilla *et al.*, 2014), em vacas repetidoras de serviço (Rodrigues *et al.*, 2007) ou em vacas nos meses quentes do ano (Baruselli *et al.*, 2020), onde a taxa de prenhez da TETF sempre é superior.

No presente estudo a TE e a IA foram realizados em um período do ano de temperaturas amenas e utilizando novilhas que ainda não possuem o desafio da produção. Esses animais possuem maior capacidade de regular a temperatura corporal conforme o aumento da temperatura ambiente comparada a vacas em lactação (Ferraz *et al.*, 2016).

A razão pela qual a fertilidade melhora pela TE em vacas ainda não é clara, e as causas de repetições de estro podem ser diferentes entre vacas e rebanhos, outrossim, um dos fatores relacionados a isso pode ser a baixa qualidade do oócito que seria resolvida pela TE (Kurykin *et al.*, 2011). Isso pois, quando o embrião em estágio de blastocisto é transferido para a receptora, são evitadas todas as causas biológicas para a falha da fêmea em desenvolver um blastocisto 6 a 8 dias após a IA. Assim, o embrião selecionado para ser transferido a receptora esteve em um ambiente onde a sobrevivência do esperma, a fertilização e o desenvolvimento inicial foram bem-sucedidos (Hansen, 2020), desafios que não se observam em



novilhas e provavelmente por isso, as taxas em nosso estudo foram semelhantes.

Observamos em nosso estudo que a taxa de prenhez foi menor na TE comparada a IA, pois a técnica de TE tende a ser mais difícil de ser realizada em novilhas, por razões anatômicas, que aumentam a possibilidade de lesionar o endométrio (Ribeiro Filho *et al.*; 2011). Uma resposta inflamatória sobre o útero pode diminuir as chances de sobrevivência do embrião. Como resposta inflamatória pode ocorrer a atuação de prostaglandinas, que pode causar distúrbios reprodutivos, como luteólise e abortamento (Odensvik, 1993), o que pode justificar o resultado inferior da TETF nesta categoria em comparação a IATF.

As receptoras foram avaliadas através de US no dia da TE, para avaliar presença e tamanho do CL, já que a área do CL determina a concentração de P4, que por sua vez, possui influência direta sobre a fertilidade, principalmente pelo efeito positivo sobre o reconhecimento materno da gestação (Vasconcelos *et al.*, 2001; Consentini *et al.*, 2021).

Contudo, sabe-se que os embriões provindos de sêmen sexado, utilizados no experimento, podem apresentar uma competência inferior para promover a gestação após a transferência, isso pois, os espermatozoides acabam sofrendo danos durante o processo de separação por sexo, pela exposição ao laser, a velocidade do tubo de coleta e mudança de carga elétrica (Villadiego *et al.*, 2018). O estudo de Palma *et al.* (2008) constatou que embriões produzidos por sêmen sexado podem apresentar um número reduzido de mitocôndrias e defeitos estruturais do núcleo, o que pode comprometer o seu desenvolvimento embrionário.

Na IATF a prenhez com sêmen sexado foi superior ao relatado no trabalho de Crepaldi *et al.* (2009) que obteve uma taxa de 31,4% de concepção em novilhas Jersey submetidas a IATF com sêmen sexado. Enquanto a taxa de prenhez de novilhas Nelore submetidas a transferência de embriões frescos foi de 47,16% (Pessoa *et al.*, 2014) semelhante ao nosso estudo.

Porém em nosso estudo, na comparação entre os grupos, a IATF demonstrou taxa de prenhez superior a TETF em novilhas, talvez pelo fato de se ter utilizado



embriões produzidos com sêmen sexado, pois o processo de classificação dos espermatozoides além de afetar a motilidade e a capacitação, também afeta a expressão de genes essenciais para o desenvolvimento embrionário, gerando danos ao acrossoma. Assim, a sexagem provoca efeitos deletérios que são transferíveis aos embriões e podem afetar as taxas de concepção e aumento das perdas embrionárias (Carvalho et al., 2009; Gosálvez et al., 2011; Mortom et al., 2007).

Demétrio *et al.* (2007) mostrou que a perda embrionária é maior na TE *in vivo* do que para IA. Ademais, a taxa de perdas embrionárias da TE em nosso estudo foi relativamente maior comparada as perdas na IATF (6% vs. 4%). A maior taxa de perdas da TE, está associada as condições de manipulação podendo causar alterações epigenéticas que prejudicam o desenvolvimento do embrião, o que pode exceder a sua capacidade adaptativa a essas condições (Sartori; Dode, 2008).

Contudo, as taxas de perdas embrionárias foram semelhantes ao observado por Seidel *et al.* (1999) que demonstrou 5% de perdas em novilhas inseminadas com sêmen sexado. Em contrapartida Pessoa *et al.* (2014) analisou 371 novilhas Nelore, quando realizada a TE a fresco, sendo que a taxa de perdas obtida foi de 9,3% entre o primeiro e o segundo diagnóstico de gestação (32 e 60 dias, respectivamente), superior ao que observamos em nosso estudo (6%).

Apesar de muitos avanços na reprodução de bovinos que tornaram a TE eficiente, a técnica ainda requer aprimoramento. Melhores taxas de concepção por TE dependerão da produção de embriões melhores e surgimento de novas ferramentas para produção e transferência (Hansen, 2020).

Conclusões

A utilização da IATF e TETF possuem resultados positivos, sendo que a técnica de IATF permitiu taxas de concepção superiores a TETF em novilhas leiteiras. A utilização de tratamentos hormonais e transferência de embriões provenientes de animais selecionados geneticamente, promove altas taxas de fecundação, culminando no sucesso dos manejos reprodutivos. Apesar de menores



taxas de concepção e maiores taxas de perdas, é importante destacar que os animais provenientes de TETF possuem grande mérito genético, além disso, a fêmea produz um número maior de descendentes, ao que seria possível fisiologicamente, permitindo intensificar a eficiência produtiva.

Referências Bibliográficas

BARUSELLI, P. S.; FERREIRA, R. M.; VIEIRA, L. M.; SOUZA, A. H.; BÓ, G. A.; RODRIGUES, C. A. Use of embryo transfer to alleviate infertility caused by heat stress. **Theriogenology**, p. 1-11, 2020.

BARUSSELI, P. S.; JACOMINI, J. O.; SALES, J. N. S.; CREPALDI, G. A. Importância do emprego da eCG em protocolos de sincronização para IA, TE e SOV em tempo fixo. Biotecnologia da reprodução em bovinos - 3º simpósio internacional de reprodução animal aplicada, 2008. Acesso em: 10 de agosto de 2023. Disponível em: http://www.geraembryo.com.br/artigos/3o-simposio-internacional-de-reproducao-animal-aplicada-arquivo-completo.

BARUSELLI, P. S.; MARQUES, M. O.; CARVALHO, N. A. T.; BERBER, R. C. A.; VALENTIM, R.; CARVALHO FILHO, A. F.; COSTA NETO, W. P. Folicular dynamic and pregnancy rate in embryo recipient (bos taurus indicus x bos taurus) treated with "Ovsynch" protocol for fixed-time embryo transfer. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 40, p. 96-106, 2003.

BONILLA, L.; BLOCK, J.; DENICOL, A. C.; HANSEN, P. J. Consequences of transfer of an in vitro-produced embryo for the dam and resultant calf. **Journal of Dairy Science**, vol. 97 no 1, 2014.

CARVALHO, J. O.; SARTORI, R.; LEMES, A. P.; MOURÃO, G. B.; DODE, M. A. N. Cinética de espermatozoides criopreservados de bovinos após sexagem por citometria de fluxo. Pesquisa agropecuária brasileira, Brasília, v. 44, n. 10, p. 1346-1351, 2009.

CONSENTINI, C. E. C.; WILTBANK, M. C.; SARTORI, R. Factors That Optimize Reproductive Efficiency in Dairy Herds with an Emphasis on Timed Artificial



Insemination Programs. Animals, v. 11, p. 1-30, 2021.

CREPALDI, G. A.; SALES, J. N. S.; FOSADO, M.; CAMPOS FILHO, E. P.; BARUSELLI, P. S. Momento da ovulação e taxa de prenhez de novilhas Jersey submetidas à inseminação artificial em tempo fixo com sêmen sexado em diferentes momentos. **VIII Simposio Internacional de Reproduccion Animal** (IRAC), Córdoba, Argentina. Proceedings, p. 16, 2009.

DEMETRIO, D. G. B.; SANTOS, R. M.; DEMETRIO, C. G. B.; VASCONCELOS, J. L. M. Factors Affecting Conception Rates Following Artificial Insemination or Embryo Transfer in Lactating Holstein Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 11, 2007.

EMBRAPA. Anuário do leite 2020. Brasília, DF, 2020. Acessado em: 28 de agosto de 2023. Disponível em: https://agroemdia.com.br/wp-content/uploads/2020/09/AnuarioLEITE2020.pdf. 23

FERRAZ, P. A.; BURNLEY, C.; KARANJA, J.; VIERA, A. N.; SANTOS, J. E. P.; CHEBEL, R. C.; GALVÃO, K. N. Factors affecting the success of a large embryo transfer program in Holstein cattle in a commercial herd in the southeast region of the United States. **Theriogenology**, 2016. Acessado em: 23 de agosto de 2023. Disponível

https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X16302333?via%3Di hub

GOSÁLVEZ, J.; RAMIREZ, M. A.; FERNÁNDEZ, C. L.; CRESPO, F.; EVANS, K. M.; KJELLAND, M. E.; MORENO, J. F. Sex-sorted bovine spermatozoa and DNA damage: II. Dynamic features. **Theriogenology**, Philadelphia, v. 75, n. 1, p. 206-211, 2011.

GUIMARÃES, M. E. M., STERZA, F. M.; MARCON, A. V.; CALDARA, F. R.; OLIVEIRA, G. F. Eficiência reprodutiva de novilhas e vacas leiteiras inseminadas com sêmen sexado. Anais do III Workshop de Pós-Graduação em Zootecnia e Ciência Animal do Estado de Mato Grosso do Sul, v. 1, 2016.

HANSEN, P. J. The incompletely fulfilled promise of embryo transfer in cattle—why aren't pregnancy rates greater and what can we do about it? **Journal of Animal**



Science, v. 98, n. 11, p. 1-20, 2020.

HAYAKAWA, H.; HIRAI, T.; TAKIMOTO, A.; IDETA, A.; AOYAGI, Y. Superovulation and embryo transfer in Holstein cattle using sexed sperm. **Theriogenology,** Philadelphia, v. 71, n. 1, p. 68-73, 2009.

KURYKIN, J.; WALDMANN, A.; TIIRATS, T.; KAART, T.; JAAKMA, U. Morphological Quality of Oocytes and Blood Plasma Metabolites in Repeat Breeding and Early Lactation Dairy Cows. **Reprod Dom Anim,** v. 46, p. 253–260, 2011.

MALLORY, D. A.; LOCK, S. L.; WOODS, D. C.; POOCK, S. E.; PATTERSON, D. J. Hot topic: Comparison of sex-sorted and conventional semen within a fixed-time artificial insemination protocol designed for dairy heifers. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 96, n. 2, p. 854-856, 2013.

MORTON, K. M.; HERRMANN, D.; SIEG, B.; STRUCKMANN, C.; MAXWELL, W. M. C.; EVANS, G.; LUCAS-HAHN, A.; NIEMANN, H.; WRENZYCKI, C. Altered mRNA expression patterns in bovine blastocysts after fertilisation in vitro using flowcytometrically sex-sorted sperm. **Molecular Reproduction and Development**, Hoboken, v. 74, n.1, p. 931-940, 2007.

ODENSVIK, K. Does Mechanical Manipulation of the Reproductive Organs Cause a Prostaglandin Release in the Heifer During Embryo Transfer? **Acta vet. scand**, v. 34, p. 219-221, 1993.

OSES, M. V.; TERUAL, M. T.; CABODEVILA, J. A. Utilización de semen bovino sexado em inseminación artificial, transferência embrionária y fertilización in vitro. **Revista Veterinaria**, v. 20, n. 2, p. 138-145, 2009. 24

PALMA, G. A.; OLIVIER, N. S.; NEUMULLER, C.; SINOWATZ, F. Effects of Sexsorted Spermatozoa on the Efficiency of in vitro Fertilization and Ultrastructure of in vitro Produced Bovine Blastocysts. **Anat. Histol. Embryol.**, v. 37, p. 67–73, 2008.

PARDO, F. J. D. Emprego de um novo dispositivo intravaginal para liberação sustentada de progesterona em programas de TETF em receptoras de embrião (Bos taurus x Bos taurus indicus). 2008. Dissertação (Mestrado em reprodução animal) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.



PESSOA, A. B. C. M.; PEREIRA, E. T. M.; MELO, M. I. V. Influência do local de inovulação e do tamanho de corpo lúteo sobre a taxa de prenhez em programa de transferência de embriões bovinos em tempo fixo. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, Belo Horizonte, v.38, n.4, p.237-241, 2014. Acessado em: 20 de setembro de 2023. Disponível em: www.cbra.org.br

PINHEIRO NETO, F. S. A.; BATISTA, A. M.; GUERRA, M. M. P.; CARNEIRO, G. F. Avaliação da IATF em novilhas Girolando utilizando-se diferentes protocolos com sêmen sexado: comunicação breve. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, Belo Horizonte, v.39, n.3, p.362-366, 2015.

RÉ, M. G. Tratamientos que prolongan el proestro usando estradiol y progesterona em vaquillonas de leche. 2018. Tese (Doutorado em reprodução bovina) - Universidade Nacional de Córdoba Faculdade de Ciências Agrárias (UNC), Córdoba, 2018.

RIBEIRO, E. S.; GALVÃO, K. N.; THATCHER, W. W.; SANTOS, J. E. P. Economic aspects of applying reproductive technologies to dairy herds. Anim Reprod, v.9, n.3, p.370-387, 2012.

RIBEIRO FILHO, A. L.; RODRIGUES, A. S.; LIMA, M. C. C.; FERRAZ, P. A.; LOIOLA, M. V. G.; BITTENCOURT, R. F. Taxa de gestação de receptoras de embriões bovinos com diferentes graus de dificuldades no procedimento de inovulação. **Ci. Anim. Bras.**, Goiânia, v.12, n.4, p. 727 – 732, 2011.

RODRIGUES, C. A.; AYRES, H.; FERREIRA, R. M.; TEIXEIRA, A. A.; MANCILHA, R. F.; OLIVEIRA, M. E. F.; SOUZA, A. H.; BARUSELLI, P. S. Comparison of pregnancy rates after artificial insemination or embryo transfer in high producing repeat breeder Holstein cows. **Acta Sci. Vet.**, v. 33, 2007.

SARTORI, R. Impacto da IATF na eficiência reprodutiva de bovinos de leite. Biotecnologia da reprodução em bovinos - 2º simpósio internacional de reprodução animal aplicada, 2006. Acessado em: 12 de agosto de 2023. Disponível em: https://siraa.com.br/novo/produto/2o-simposio-internacional-de-reproducao-animal-aplicada/



SARTORI, R.; DODE, M. A. N. Mortalidade embrionária na IA, TE, FIV e clonagem. Biotecnologia da reprodução em bovinos - 3º simpósio internacional de reprodução animal aplicada, 2008. Acessado em: 20 de setembro de 2023. Disponível em: http://www.geraembryo.com.br/artigos/3o-simposio-internacional-de-reproducao-animal-aplicada-arquivo-completo.

SCHENK, J. L.; SUH, T. K.; SEIDEL JÚNIOR, G. E. Embryo production from superovulated cattle following insemination of sexed sperm. **Theriogenology**, Philadelphia, v. 65, n. 1, p.299-307, 2006.

SEIDEL JÚNIOR, G. E.; SCHENK, J. L. Pregnancy rates in cattle with cryopreserved sexed sperm: Effects of sperm numbers per inseminate and site of sperm deposition. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 105, n.1, p. 129-138, 2008.

SEIDEL JÚNIOR, G. E.; SCHENK, J. L.; HERICKHOFF, L. A.; DOYLE, S. P.; BRINK, Z.; GREEN, R. D.; CRAN, D. G. Insemination of heifers with sexed sperm. **Theriogenology**, v. 52, p. 1407-1420, 1999.

VASCONCELOS, J. L. M.; SARTORI, R.; OLIVEIRA, H. N.; GUENTHER, J. G.; WILTBANK, M. C. Reduction is size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. **Theriogenology**, v. 56, p. 307- 314, 2001.

VILLADIEGO, F. A. C.; GUIMARÃES, J. D.; COSTA, E. P.; ÁLVAREZ, J. A. C.; LEÓN, V. H. G.; LÓPEZ, C. J, R. Sêmen sexado através de citometria de fluxo e centrifugação por gradiente de concentração. **Rev. Med. Vet**.