

UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
ESCOLA DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, INOVAÇÃO E NEGÓCIOS
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

Ana Roberta Nehls

RELATÓRIO DE ESTÁGIO TÉCNICO PROFISSIONAL EM MEDICINA VETERINÁRIA
Área: Biotecnologia da Reprodução Bovina de Corte

Passo Fundo

2023

Ana Roberta Nehls

RELATÓRIO DE ESTÁGIO TÉCNICO PROFISSIONAL EM MEDICINA VETERINÁRIA
Área: Biotecnologia da Reprodução Bovina de Corte

Relatório de Estágio Técnico Profissional apresentado ao Curso de Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo, como requisito parcial para obtenção do grau de Médico(a) Veterinário(a), sob a orientação acadêmica da Professora Doutora Maria Isabel Botelho Vieira.

Passo Fundo

2023

Ana Roberta Nehls

Relatório de estágio técnico profissional em medicina veterinária
Área: Biotecnologia da Reprodução Bovina de Corte

Relatório de Estágio Técnico Profissional apresentado ao Curso de Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo, como requisito parcial para obtenção do grau de Médico(a) Veterinário(a), sob a orientação acadêmica da Professora Doutora Maria Isabel Botelho Vieira.

Aprovado em 04 de Dezembro de 2023

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Maria Isabel Botelho Viera - UPF

Prof. Dr. Jerbeson Hoffmann da Silva

Doutoranda do PPGBIOEXP Franciele Oliveira

Dedico este trabalho a toda minha família, amigos e todos os profissionais que fizeram parte deste crescimento e formação da pessoa que sou hoje. Muito obrigada!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, por me proporcionar saúde e oportunidade para a realização deste sonho.

Aos meus pais, Marines e Roberto agradeço por todos os ensinamentos e suporte que me concederam durante a graduação e vida. Também agradeço aos meus irmãos e minha cunhada, Eduardo e Diovana por toda força e conselhos durante esse período. Ao meu irmão Vitório e sobrinho Pietro obrigada por colorir minha vida e trazer a alegria e leveza de ser criança, espero contribuir para o futuro de vocês. Estendo esse agradecimento a minha madrastra Patrícia e meu padrasto Donato por me motivarem a correr atrás desse sonho. O meu avô Federico por me inspirar a nunca desistir do que almejo, sempre mostrando o melhor de mim e a minha avó Neide pela proteção e que sempre estará na minha memória, me dando força e coragem para alcançar os meus objetivos. Sou grata por ter vocês como base. Todos vocês contribuíram para a pessoa que sou hoje. Amo vocês!

A todas as amigas construídas durante a graduação, aos meus colegas e amigos Gabriel, Luan e Marina. Em especial as minhas parceiras de vida Anaís, Bruna, Júlia e Morgana que sempre estiveram ao meu lado nessas trajetórias. Grata também as amigas cultivadas durante o tempo que estive em Uruguaiana, principalmente ao Denner e Ellen. Vocês fizeram a realização deste sonho ser mais leve, obrigada pelo companheirismo e apoio. Amo vocês!

Agradeço todos os professores do curso de Medicina Veterinária – UPF por todos os conhecimentos repassados que vieram a agregar na minha vida profissional, bem como o incentivo por novos conhecimentos. Em especial a minha orientadora Prof. Dra. Maria Isabel Botelho Vieira por todo auxílio. Bem como, os médicos veterinários que me deram a oportunidade e confiança de estagiar e aprender.

Obrigada a família Pavin pela oportunidade de estagiar tanto na CCPS Renascer Biotecnologia e Estância Renascer e Reserva, assim agregando conhecimento profissional e pessoalmente. A equipe da CCPS e das Estâncias muito obrigada pelo acolhimento e por toda convivência durante esse período. Sou grata pelas amigas e ensinamentos realizados nesse período com vocês: Mayara, Natalia Jocinei e Pedro. Agradecimento especial a minha supervisora do estágio Cecília por toda ajuda durante o ETP.

Por fim, a todos que contribuíram para a pessoa e profissional que venho a me tornar, sou extremamente grata. Obrigada por tudo, Amo vocês!

“A transformação somente ocorre se tiver determinação e foco para alcançar o que almeja, além de paciência para compreender os obstáculos. Assim como a lagarta que passa pelo casulo antes de voar como borboleta, atingindo o tão desejado sucesso”.

Ana Roberta Nehls

RESUMO

O Estágio Técnico Profissional (ETP) é um momento de colocar em prática todo o conhecimento adquirido durante a graduação de Medicina Veterinária, assim aprimorando-se na área desejada para a futura atuação profissional. O ETP ocorreu no período de 17 de julho de 2023 até 20 de outubro de 2023, totalizando 480 horas, sob orientação acadêmica do Prof. Dra Maria Isabel Botelho Vieira. Realizado na área de Biotecnologia da Reprodução, na Central de Congelamento e Processamento de Sêmen Bovino (CCPS) Renascer Biotecnologia, onde foi possível acompanhar a rotina dentro do laboratório, auxiliando as MV's na avaliação, processamento e congelamento de sêmen bovino. Além disto foi possível vivenciar todo o processo desde exames de admissão, andrológico, sanidade de novos touros ingressados e até a coleta de sêmen. O presente relatório tem o objetivo de descrever o local de estágio, as atividades gerais desenvolvidas e realizadas durante esse período, e no final deste será relatado o projeto que leva como título o excesso de defeito maior correlacionado com a taxa de prenhez. Por fim, o ETP foi essencial para o amadurecimento profissional e pessoal, por conta das interações com diferentes profissionais especializados na área desejada.

Palavras-chave: Criopreservação seminal; Melhoramento genético; Andrologia; Qualidade espermática.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Imagem de satélite da CCPS Renascer Biotecnologia.....	17
Figura 2 - Sala de lavagem e esterilização de materiais e preparação meios.	18
Figura 3 - Sala de lavagem e montagem de VA.....	19
Figura 4 - Tronco de contenção.....	19
Figura 5 - Área de coleta.	20
Figura 6 - Piquete dos touros residentes.....	20
Figura 7 - Estrutura do quarentenário.....	21
Figura 8 - Bancos de sêmen.....	21
Figura 9 - Mangueira, tronco e sala veterinária da Estância Renascer.....	22
Figura 10 - Mangueira, tronco e sala veterinária da Reserva.	22
Figura 11 - Avaliação do testículo por meio de US.	24
Figura 12 – Realização de teste de ATT.	26
Figura 13 – Coleta de sangue para exame de BVD.....	28
Figura 14 – Aplicação de solução fisiológica 0,9% no interior do prepúcio do animal através do óstio prepucial com auxílio de uma pipeta de inseminação para o exame de tricomoníase e campilobacteriose.	29
Figura 15 - Vagina artificial para coleta de sêmen em touros evidenciando seus componentes	31
Figura 16 – VA montada com protetor de temperatura ao lado.	32
Figura 17 – Coleta de ejaculado com VA e auxílio de manequim.....	34
Figura 18 – EJJ utilizado para coleta de sêmen dos reprodutores.....	36
Figura 19 – Área de recebimento com balança analítica para mensuração do volume através do peso do ejaculado e ficha de controle.....	37
Figura 20 - Espectrofotômetro para mensuração da concentração de espermatozoides no ejaculado (AccuCell, IMV Technologies).....	38
Figura 21 - Área de análise imediata do sêmen com microscópio, mesa térmica e demais equipamentos.....	39
Figura 22 - Balcão refrigerador utilizado para realização do resfriamento do sêmen, no interior as envasadeiras MRS1 e MRS4.....	42
Figura 23 - Freezer de temperatura controlada para congelamento e sêmen, DigitCool® IMV Technologies.....	44

Figura 24 - Computador de comando onde se visualizar a curva de congelamento do freezer, com a temperatura teórica em amarelo, temperatura da câmara em vermelho e temperatura do produto em azul.	44
Figura 25 - Sistema Computadorizado de Avaliação do Espermiática (CASA; IVOS II-Hamilton Thorne).	46
Figura 26 - Microscópio, mesa térmica e demais equipamentos utilizados para TTR.....	47
Figura 27 - Processo de raqueamento, onde palhetas e raques estão imersas em N2L.....	47
Figura 28 – Matérias para realização do D0.....	49
Figura 29 - Hormônios e tinta para pintura do sacrocaudal no D7.	50
Figura 30 – Materiais utilizados para IA no D9.....	51
Figura 31 – Posição que os fetos se apresentavam. A - Posição longitudinal anterior, posição superior, flexão parcial da articulação escápulo-umeral unilateral e B- Apresentação verticoventral.	52
Figura 32 – Apresentação do feto com vida.	53
Figura 33 - Trans- operatório da técnica de paramamária. A – Início da secção do local. B – Exposição do feto através da secção da ponta do corno na curvatura maior, sob os membros.	54
Figura 34 – Correntes obstétricas colocadas sob o boleto e metacarpo.	54
Figura 35 – Padrão de suturas utilizados na paramamária. A – Padrão Reverdin para miorragia, B – Sutura Contínua Simples para redução de espaço morto e miorragia e C – Padrão Wolff para dermorragia	55
Figura 36 – Aplicação de Unguento sob a ferida da progenitora e seu feto sem vida.	56
Figura 37 – Paciente pós- operatório e sua prole com vida.....	56
Figura 38 – Ilustração de diadema.....	59
Figura 39 – Avaliação de morfologia através de microscopia óptica com aumento de 1000x e diluição do sêmen em Formol Citrato e corante Rosa de Bengala, sendo possível observar 5 células com diadema do touro doador, na CPPS Renascer Biotecnologia.....	60
Figura 40 – Esquema do protocolo de IATF.	60
Figura 41 – Diagnóstico gestacional através de ultrassonografia. A – 30 dias de gestação e B - 60 dias de prenhez	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resumo das atividades desenvolvidas durante o Estágio Técnico Profissional na CCPS Renascer Biotecnologia, Estância Renascer e Reserva, Barra do Quaraí e Uruguaiana-RS	23
Tabela 2 - Classificação dos Espermatozoides de acordo com a Classificação de Blom, 1972.	41
Tabela 3 – Laudo dos resultados obtidos do espermograma.	61

LISTA DE SÍMBOLOS, UNIDADES, ABREVIATURAS E SIGLAS

°C	Graus Celsius
ASBIA	Associação Brasileira de Inseminação Artificial
ATT	Teste do Antígeno Acidificado Tamponado
BE	Benzoato de Estradiol
BVD	Diarreia Viral Bovina
CASA	Sistema Computadorizado de Avaliação do Movimento Espermático
CCPS	Central de Congelamento e Processamento de Sêmen
CE	Cipionato de Estradiol
CE	Circunferência Escrotal
CGB	Campilobacteriose Genital Bovina
CL	Corpo Lúteo
CP	Citopático
D0	Dia Zero do Protocolo
D10	Dia Dez do Protocolo
D7	Dia Sete do Protocolo
D8	Dia Oito do Protocolo
D9	Dia Nove do Protocolo
DIV	Dispositivos Intravaginais
DM	Doença de Mucosa
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
ECC	Escore de Condição Corporal
eCG	Gonadotrofina Coriônica Equina
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-acético
EEJ	Eletroejaculação
ETP	Estágio Técnico Profissional
FSH	Hormônio Folículo Estimulante
g	Gramas
GnRH	Hormônio Liberador de Gonadotrofinas
IA	Inseminação Artificial
IATF	Inseminação Artificial em Tempo Fixo
IEP	Redução do Intervalo entre Parto

IM	Intramuscular
IU	Intrauterina
IV	Intravaginal
kg	Quilogramas
Km	Quilômetros
LH	Hormônio Luteinizante
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.
mg	Miligramas
mL	Mililitros
mm	Milímetros
mm ³	Milímetros Cúbicos
MV	Médico(a) Veterinário(a)
N2L	Nitrogênio Líquido
NCP	Não Citopático
n°	Número
P4	Progesterona
PGF2 α	Análogos de Prostaglandina F2 α
pH	Potencial Hidrogeniônico
PI	Infectado Persistente
PNCEBT	Programa Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose
PPD	Purified Protein Derivative
RM	Massagem Transretal
RS	Rio Grande do Sul
s/n	Sem número
TEC	Toneladas Equivalente de Carcaça
TTR	Teste de Termorresistência
U.I	Unidades Internacionais
UD	Dose Única
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
uL	Graus Celsius
uL	Microlitros
US	Ultrassonografia
VA	Vagina Artificial

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. DESCRIÇÃO DO LOCAL DE ESTÁGIO	17
2.1. Central de Congelamento e Processamento de Sêmen Renascer Biotecnologia	17
2.2. Estância Renascer	22
3. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS	23
3.1. EXAMES DE ADMISSÃO E ANDROLÓGICO	24
3.1.1. Exames de Brucelose e Tuberculose	25
3.1.2. Coleta de Material Para Exame de Diarreia Viral Bovina, Tricomonose e Campilobacteriose	27
3.1.3. Imunização Contra Clostridioses	30
3.1.4. Terapia Profilática Contra Leptospirose	30
3.2. MONTAGEM DE VAGINAS ARTIFICIAIS	31
3.3. COLETA DE EJACULADO	33
3.3.1.1 Vagina Artificial	33
3.3.1.2 Eletroejaculador	34
3.4. RECEPÇÃO DO EJACULADO	36
3.5. ESPERMOGRAMA	38
3.5.1.1 Análise Imediata	38
3.5.1.2 Avaliação da Morfologia Espermática	40
3.6. DILUIÇÃO E ENVASAMENTO	41
3.7. CONGELAMENTO DO SEMÊN	43
3.8. AVALIAÇÃO PÓS CONGELAMENTO	45
3.9. TESTE DE TERMORRÊSISTENCIA	46
3.10. RAQUEAMENTO E ARMAZENAMENTO	47
3.11. MANEJO REPRODUTIVO	48
3.11.1. Inseminação Artificial em Tempo Fixo	48

3.11.2. Diagnóstico Gestacional	52
3.11.3. Cesariana	52
4. RELATO DE CASO	57
RESUMO	57
INTRODUÇÃO.....	58
MATERIAIS E MÉTODOS.....	59
RESULTADOS	61
DISCUSSÃO.....	61
CONCLUSÃO.....	63
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	64
REFERÊNCIAS	65
ANEXOS	73

1. INTRODUÇÃO

A cada ano que passa se confirma que o Brasil é o celeiro do mundo, podemos observar isso através dos resultados obtidos no mercado de grãos e/ou de produtos de origem animal. No ano de 2022 o rebanho brasileiro era o segundo maior rebanho bovino do mundo com cerca de 202 milhões de cabeças, o que representa 12,18% do rebanho mundial, além disto, ocupou a segunda posição de produção de carne neste mesmo período, produzindo 10,79 milhões de toneladas equivalente carcaça (TEC). Já na exportação é considerado o maior exportador de carne bovina do mundo, com 27,7% das exportações mundiais, chegando a 3,02 milhões de TEC (ABIEC, 2023).

O Rio Grande do Sul (RS), possui 13,19 milhões de cabeças, ocupando a 6^o posição no ranking nacional (ABIEC, 2023). Este rebanho se encontra concentrado em maior número na região oeste e sul do estado, principalmente no bioma pampa (PROCERGS, 2022), nesta região a bovinocultura de corte para algumas cidades, como Uruguaiana que corresponde a 368.761 cabeças de gado e Barra do Quaraí com 53.830 animais, têm alta relevância para a economia dos municípios (IBGE, 2023).

O aprimoramento da pecuária brasileira é uma exigência do mercado e dos consumidores, assim a bovinocultura de corte busca estratégias tecnológicas e de manejo para buscar retorno econômico para a atividade. A biotecnologia reprodutiva mais utilizada no mundo é a inseminação artificial (IA), proporcionando grandes benefícios aos rebanhos quando comparada ao uso da monta natural. Conforme o Departamento de Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ/USP) em 2022 a Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) teve um aumento, atingiu 97,7% das formas de inseminações realizadas no Brasil. Mas em 2022 a comercialização de protocolos teve um recuo de 5,3% comparado a 2021 (BARUSELLI, 2023), bem como o número de doses que tiveram um declínio de 9,6%, atingindo 25.660.869 doses, conforme os dados da Associação Brasileira de Inseminação Artificial (ASBIA).

Apesar do retrocesso de 2022, é visível os resultados do IATF na bovinocultura, que se reflete diretamente nos ganhos para o produtor, como maior ganho genético, características reprodutivas, animais precoces com melhor performance ao desmame, rebanhos com maior padronização e qualidade nos produtos cárneos. Deste modo as Centrais de Colheita de Sêmen buscam refletir as características de seus reprodutores nos catálogos e também na qualidade de sêmen para obter bons índices de prenhez nas propriedades rurais.

Para obter o aprimoramento que o mercado exige e ter resultados satisfatórios, deve-se manter uma constante atualização dos profissionais. Pois a área da reprodução animal necessita

de um amplo conhecimento, bem como, suas biotécnicas reprodutivas e suas aplicações que vem a influenciar o cenário da pecuária nacional e internacional.

O Estágio Técnico Profissional (ETP) ocorreu no período de 17 de julho de 2023 a 21 de outubro de 2023, sob orientação acadêmica da Prof^ª. Dr^ª. Maria Isabel Botelho Vieira, totalizando 480 horas. Foi realizado na empresa Renascer Biotecnologia, na Central de Congelamento e Processamento de Sêmen (CCPS) bovino e na Estância Renascer, ambas localizadas no mesmo local, sob supervisão da Médica Veterinária (MV) Cecília Machado Pavin.

Durante o ETP foi possível exercer o conhecimento adquirido durante a graduação, assim incentivando o aprendizado diariamente e o crescimento pessoal e profissional. O objetivo do relatório é descrever o local de estágio, atividades desenvolvidas e o relato de caso. Durante o estágio era possível acompanhar todas as atividades da central, desde a rotina no laboratório ao manejo dos reprodutores e coletas de sêmen. Já na estância realizou-se atividade como manejo reprodutivos, entre eles protocolo de inseminação, IATF's e diagnóstico de gestação, também auxílio cirúrgico, como de cesariana.

2. DESCRIÇÃO DO LOCAL DE ESTÁGIO

O Estágio Técnico Profissional foi realizado na Central de Congelamento e Processamento de Sêmen Renascer Biotecnologia e na Estância Renascer, ambas localizadas na Rodovia BR 472, Km 613-615, Estância Renascer, s/n no Distrito de Guterrez, município da Barra do Quaraí, Rio Grande do Sul. A Estância também conta com uma sede conhecida como Reserva que é localizada no município de Uruguaiana, no Distrito João Arregue.

2.1. Central de Congelamento e Processamento de Sêmen Renascer Biotecnologia

No ano de 2017 a CCPS Renascer Biotecnologia (Figura 1) iniciou suas atividades, com horário de funcionamento das 08:00 às 18:00 horas de segunda a sexta-feira e no sábado das 08:00 às 12:00 horas, no restante do período é realizado o manejo com os animais, como alimentação e reposição da água dos bebedouros. O objetivo da empresa é auxiliar o melhoramento genético da pecuária de corte da região Sul do Brasil, mas hoje está presente em todo o território brasileiro e demais países através da comercialização do sêmen bovino criopreservado.

Figura 1 – Imagem de satélite da CCPS Renascer Biotecnologia.



Fonte: Google Maps, 2023.

A empresa é composta atualmente por cinco MV's, entre eles, o diretor comercial e responsável nutrição dos animais, Leonardo Barreiro Pavin; a responsável técnica da empresa, Cecília Machado Pavin; o responsável pelo manejo sanitário e de coleta, Jocinei Alves Dichetti; as responsáveis pelas avaliações, processamento e congelamento de sêmen, Mayara Costa Oyhenard e Natália Meregalli Zancanaro. Além de outros membros do setor administrativo, financeiro, controle de estoque, vendas e manejo dos reprodutores.

A central é constituída por reprodutores de diferentes raças, entre elas Aberdeen Angus, Red Angus, Brangus, Red Brangus, Charolês, Hereford, Braford, Devon e Nelore. Neste período de estágio totalizavam 42 touros em manejo de coleta. Estes reprodutores eram introduzidos de duas formas na central, podendo ser por contratação, deste modo esse animal passa por uma avaliação dos seus índices de melhoramento genéticos, perfil morfológico e demanda de mercado. A outra forma de introdução é através de prestação de serviço, direto ao produtor que busca congelar sêmen dos seus touros para aplicação em seu próprio rebanho, desta forma a comercialização para terceiros não é permitida.

A CCPS é constituída e organizada da seguinte forma:

- 1) Laboratório (Figura 2): composta por um vestiário, sala de lavagem e esterilização de materiais, preparação de meios e impressão de palhetas, área de processamento e congelamento de sêmen e de controle de qualidade de sêmen. A recepção do sêmen ocorre através de um óculo com porta dupla, assim é a forma que entra da área de coleta para o laboratório.

Figura 2 - Sala de lavagem e esterilização de materiais e preparação meios.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

- 2) Área de coleta dos reprodutores: possui vestiário, armário para medicações, sala de lavagem e montagem de Vaginas Artificiais (VAs) (Figura 3), tronco de contenção (Figura 4), áreas para realização de coletas de sêmen (Figura 5), sendo de forma coberta e aberta, também utilizada no manejo dos touros e piquetes de espera para coleta.

Figura 3 - Sala de lavagem e montagem de VA.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

Figura 4 - Tronco de contenção.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

Figura 5 - Área de coleta.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

- 3) Piquetes dos Touros Residentes (Figura 6): 60 piquetes, com aproximadamente 600m² cada, área coberta e cocho, saleiro e bebedouro individual.

Figura 6 - Piquete dos touros residentes



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

- 4) Quarentenário: 20 piquetes, com aproximadamente 225m² cada, área coberta com cocho, saleiro e bebedouro individual. Também é composto por brete, tronco de contenção e um laboratório que é utilizado para realização de exames dos animais que estão em quarentena (Figura 7).

Figura 7 - Estrutura do quarentenário



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

- 5) Depósito de ração: é uma sala fechada onde é armazenada a ração e o sal mineral.
- 6) Estoque (Figura 8): está em conjunto com o laboratório e à unidade administrativa, é o local onde fica armazenado o sêmen criopreservado que fica alojado em bancos de sêmen os quais possuem capacidade para armazenar 180 mil doses. Também é onde se encontram os botijões de Nitrogênio Líquido (N₂L) e outros materiais de consumo.

Figura 8 - Bancos de sêmen



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

2.2 Estância Renascer

A Estância tem aproximadamente 30 anos de fundação, atualmente conta predominantemente com animais da raça Braford, no qual 90% destes animais são registrados na Associação Brasileira de Hereford e Braford (ABHB). Também se iniciou a criação de Brangus. O número total de cabeças gira em torno de 2.800, distribuídas em duas fazendas, a Renascer e a Reserva. A finalidade da propriedade é a produção de carne, tanto destinado a comercialização carnea e melhoramento genético. O MV Pedro Henrique Auzani é responsável pelo manejo sanitário e reprodutivo dos animais, bem como a gestão do local. Em ambas as sedes contam, com mangueira e tronco de contenção, além de sala veterinária, com local para armazenamento de vacinas e medicamentos.

Figura 9 - Mangueira, tronco e sala veterinária da Estância Renascer.



Arquivo pessoal, 2023.

Figura 10 - Mangueira, tronco e sala veterinária da Reserva.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

3. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

Durante o período de estágio foram desenvolvidas inúmeras atividades na CCPS e na Estância Renascer. Na rotina foi possível acompanhar a admissão de reprodutores, coleta de material para exames, aplicações de medicamentos, coletas de sêmen através de VA e eletroejaculador, montagem de VA, congelamento de sêmen e avaliações pré e pós-congelamento, bem como manejos reprodutivos da estância, conforme descritos na Tabela 1.

Tabela 1 - Resumo das atividades desenvolvidas durante o Estágio Técnico Profissional na CCPS Renascer Biotecnologia, Estância Renascer e Reserva, Barra do Quaraí e Uruguaiana-RS

Atividades Desenvolvidas:	Valor Quantitativo:	Frequência:
IATF	920	24,72%
Diagnóstico Gestacional	880	23,64%
Avaliação de motilidade e vigor a fresco	620	16,66%
Avaliação espermática pós congelamento	590	15,85%
Teste de Termorresistência	310	8,33%
Montagem de Vagina Artificial (VA)	210	5,64%
Avaliação de morfologia espermática	60	1,61%
Raqueamento	50	1,34%
Coleta de Sêmen com VA	30	0,81%
Envase sêmen MRS1	20	0,54%
Coleta de material para exame de BVD, Trichomoníase e Campilobacteriose	10	0,27%
Terapia profilática contra Leptospirose	10	0,27%
Imunização contra Clostridiose	3	0,08%
Coleta de Sêmen com Eletroejaculador	3	0,08%
Exame de Tuberculose	2	0,05%
Exame de Brucelose	2	0,05%
Cesariana	2	0,05%
TOTAL	3.722	100%

Fonte: Ana R. Nehls, 2023.

3.1. EXAMES DE ADMISSÃO E ANDROLÓGICO

Os touros reprodutores que chegam na central ficam alojados no quarentenário para que seja submetido aos exames de admissão. O exame de admissão, que engloba o exame físico geral, exame andrológico e coleta de material para DNA. Também é realizado o preenchimento de uma ficha de identificação do animal, constando dados como peso do animal, comprimento corporal, profundidade do tórax, perímetro torácico, altura da garupa, comprimento da garupa, distância dos ísquios, Circunferência Escrotal (CE) e Escore de Condição Corporal (ECC).

O exame físico geral tem o objetivo de verificar a presença de alguma lesão e comorbidade que venham interferir no serviço com animal, como por exemplo alguma claudicação que interfere no sistema locomotor do touro. Se faz o exame clínico específico, onde é inspecionado os órgãos reprodutores, através da palpação retal e testiculares e ultrassonografia (US) testicular (Figura 11) também é realizada a avaliação espermática e do comportamento sexual através da indução da monta.

Figura 11 - Avaliação do testículo por meio de US.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

O comportamento reprodutivo dos machos na monta natural é dividido em três etapas: pré copulatório que é subdividido em busca pelo companheiro sexual, cortejo, estímulo sexual e protrusão peniana, nesta etapa é possível identificar a libido do animal e os principais sinais fisiológicos do comportamento sexual foram o ato de cheirar ou lambe o corpo da fêmea, cheirar ou lambe a vulva, seguidos ou não por reflexo de Flehmen. A segunda parte é a cópula que aborda a monta, intromissão e ejaculação e a pós cópula que vai ser o momento de desmontar e período de recuperação do reprodutor. Esta avaliação é mais utilizada em animais destinados a monta natural.

Após isto, os animais ficam aproximadamente 40 dias no quarentenário para coleta de exames para tuberculose, brucelose, diarreia viral bovina (BVD), campilobacteriose e tricomonose genital bovina e imunização contra clostridioses e terapia profilática contra leptospirose, que serão relatadas a seguir.

3.1.1. Exames de Brucelose e Tuberculose

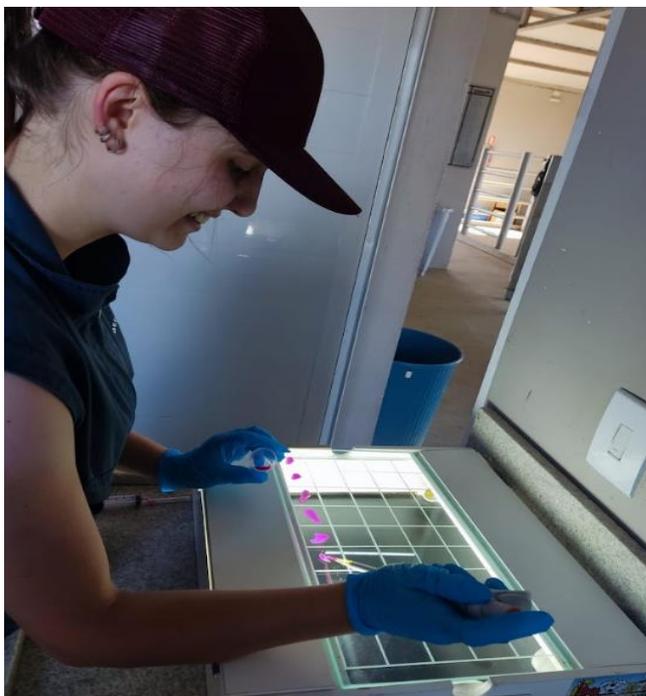
Os exames de brucelose e tuberculose são efetuados nos animais que chegam no quarentenário da CCPS e também semestralmente nos touros residentes. O MV responsável pela coleta e manejo sanitário da central é responsável pela realização dos exames, esse MV é habilitado pelo Programa Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose (PNCEBT).

A brucelose faz parte do gênero *Brucella*, é uma doença infectocontagiosa crônica e se trata de uma zoonose. A *Brucella abortus* é a causadora da brucelose bovina e bubalina (MAPA, 2023), os principais sinais da doença são o aborto nas vacas no terço final da gestação e orquite nos machos ocasionando perda de libido e infertilidade (VICENTE,2006). A transmissão venérea de touros infectados às vacas suscetíveis é considerada rara, apesar de encontrar a *Brucella sp* no sêmen, a vagina possui barreira inespecífica que dificulta a contaminação (MERCK, 2014). Já em caso de inseminação artificial deve se ter um cuidado maior, pois o sêmen vai ser depositado diretamente no útero, assim não existem barreiras e se tem um ambiente propício para multiplicação do patógeno. Por conta disto, touros infectados não podem ser doadores de sêmen (LAGE et al., 2006).

O teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) foi realizado para o exame de brucelose, onde eram coletados 10 mL de sangue da veia coccígea em tubo vacutainer sem presença de anticoagulantes. Após o repouso do material, o plasma sanguíneo era pipetado e colocado na placa de vidro própria para realização do teste e em seguida é adicionado AAT, em seguida é homogeneizado com movimentos circulares (Figura 12). A placa era colocada sobre

uma caixa iluminada, com o objetivo de facilitar a visualização. A amostra que tiver formação de grumos é considerada positiva, já em caso de resultados negativos não há reação.

Figura 12 – Realização de teste de ATT.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

O *Mycobacterium bovis* é o causador da tuberculose que acomete principalmente bovinos e bubalinos, considerada uma enfermidade de evolução crônica e zoonótica. A formação progressiva de lesões nodulares denominadas de tubérculos que se localizam em qualquer órgão ou tecido (LAGE et al., 2006). Em 90% dos casos, a transmissão do *M. bovis* se dá por aerossóis durante o contato direto entre animais infectados e sadios. O animal infectado pode eliminar o agente em secreções respiratórias e vaginais, sêmen, fezes, urina e leite (MAPA,2023). A ocorrência de transmissão sexual é considerada pouco frequente, mas pode vir a ocorrer em casos de epididimite e metrite tuberculosa (LAGE et al., 2006).

O exame de tuberculose também regulamentado pelo PNCEBT, na CCPS era realizado o diagnóstico através do teste cervical simples na região da espinha da escápula, utilizando a avaliação alérgica cutâneo com tuberculina. Antes de iniciar o teste era necessário realizar a tricotomia do local, medida a espessura da pele com cutímetro e anotado o valor obtido. Em seguida era inoculado 0, 1 mL de tuberculina bovina – PPD (Purified Protein Derivative) bovina, por via intradérmica e, após 72 horas da inoculação se faz mensuração da espessura de pele com o cutímetro.

A subtração ocorria através das duas mensurações, assim classificava o animal como positivo, negativo ou inconclusivo. Os animais considerados negativos são aqueles onde a diferença entre as medidas não ultrapassa 1,9mm, inconclusivos os com valores de 2,0 a 3,9mm, e positivos os acima de 4,0mm. Já no caso do Teste Cervical Comparativo, com PPD bovino e aviário aplicados simultaneamente, somente era efetuado em animais suspeitos e positivos, depois de 60 a 90 dias, se trata de um teste com maior especificidade em relação aos testes simples. Esse teste permite eliminar a maior causa de reações falso positivas, que são as infecções por micobactérias ambientais. É fundamental que os animais positivos sejam abatidos, evitando-se, assim, a disseminação da tuberculose (LAGE et al., 2006).

3.1.2. Coleta de Material Para Exame de Diarreia Viral Bovina, Tricomonose e Campilobacteriose

A Diarreia Viral Bovina (BVD) é causada pelo gênero *Pestivirus*, podendo ser dividida em diferentes formas. Existem dois genótipos que são a BVD tipo 1 e BVD tipo 2 com diferenciação baseada na sequência de genes e tem variações na virulência dentro de ambos os genótipos. Existem também dois biotipos, não citopático (NCP) e citopático (CP), baseados na habilidade dos vírus de provocar a vacuolização citoplasmática e morte das células em cultivo (SANTOS e ALESSI, 2017).

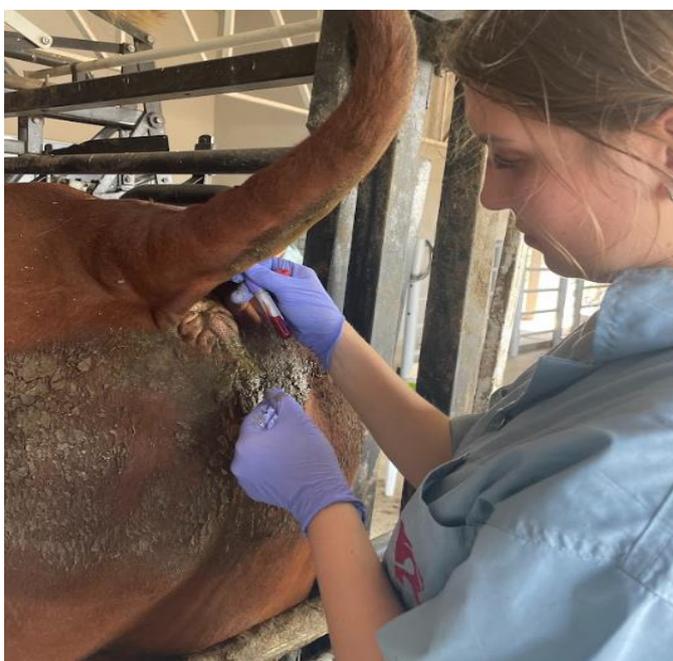
A infecção pelo BVD pode cursar de forma assintomática ou sintomática, com sinais respiratórios, digestivos e reprodutivos, além de imunossupressão. A contaminação do rebanho pode vir a ocorrer antes ou após a cobertura ou inseminação artificial pode resultar em perdas reprodutivas como infertilidade temporária, retorno ao cio, mortalidade embrionária ou fetal, abortos ou mumificação, malformações fetais ou o nascimento de bezerros fracos e inviáveis (BAKER 1995). Deste modo, a falha reprodutiva é considerada um dos principais sinais clínicos.

No rebanho de corte, a infecção fetal é considerada uma das principais perdas econômicas. Quando a infecção ocorre durante o primeiro trimestre de gestação pode resultar no nascimento de bezerros vivos que são infectados persistentemente (PI) com o vírus da BVD (RADOSTITS et al., 2002). Animais PI são imunotolerantes, incapazes de eliminar o vírus e constituem uma fonte contínua de excreção através de secreções. Em geral, esses animais morrem até o segundo ano de vida, devido a infecções secundárias ou doenças das mucosas (DM), mas alguns chegam a idade adulta e entram em reprodução, contaminando outros animais do rebanho (BAKER, 1995).

A transmissão do vírus também pode ocorrer através do touro infectado, podendo ser por monta natural ou pelo uso de sêmen contaminado, durante a inseminação artificial (WALZ et al., 2010). Dados demonstram que, após infecção aguda, o vírus pode permanecer no tecido testicular por até sete meses (GIVENS et al., 2003). Portanto, o monitoramento do vírus é de suma importância em touros reprodutores para evitar a disseminação pelo semên.

O exame de BVD é enviado à análise ao laboratório de virologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Era coletado 5mL de sangue por punção na veia coccígea em tubo vacuntainer com Ácido Etilenodiamino Tetra-acético (EDTA) e enviado para o laboratório (Figura13).

Figura 13 – Coleta de sangue para exame de BVD.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

A tricomose é uma doença venérea de bovinos causada por um protozoário flagelado denominado *Trichostrongylus axei* (*T. axei*) (PELLEGRIN e LEITE, 2003). As fêmeas contaminadas podem apresentar aborto precoce (pouco detectado devido ao pequeno tamanho do feto), repetição de cio, vaginite, endometrite, piometra, infertilidade e consequente redução na produção de carne e leite. O macho, muitas vezes, não apresenta sintomatologia, mas passa o parasito para outras vacas por meio do coito, sendo inviabilizado para a reprodução. Os touros positivos devem ser retirados do plantel e as fêmeas ter um descanso sexual entre 3 a 4 meses, pois a mudança de pH durante o cio mata o parasito (MONTEIRO, 2022). Deste modo, os reprodutores devem ser negativos, para evitar dissipação da enfermidade.

A campilobacteriose genital bovina (CGB) é causada pela bactéria *Campylobacter fetus venerealis*. Caracterizada, principalmente, por morte embrionária precoce, diminuição da produção, infertilidade, estação de parto prolongada e, às vezes, abortamento. A transmissão ocorre de forma venérea e também por meio de instrumentos e camas contaminados ou ainda por inseminação artificial com sêmen contaminado (MERCK, 2014).

Para o exame de tricomoníase e campilobacteriose eram injetados 50mL de solução fisiológica 0,9% no interior do prepúcio do animal através do óstio prepucial com auxílio de uma pipeta de inseminação (Figura 14), o líquido após ser mantido por alguns segundos no interior do prepúcio em contato direto com as mucosas internas era coletado em tubos com meios de cultura próprio para cada um dos microrganismos. As amostras eram destinadas para análise ao Laboratório de Bacteriologia Veterinária da UFRGS.

Figura 14 – Aplicação de solução fisiológica 0,9% no interior do prepúcio do animal através do óstio prepucial com auxílio de uma pipeta de inseminação para o exame de tricomoníase e campilobacteriose.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

Durante o período do quarentenário os touros passavam por coleta uma vez por semana durante quatro semanas. Os animais com resultado negativo para todos os testes se tornaram reprodutores residentes, assim se tornando apto para a coleta de sêmen. Já os reprodutores residentes são reexaminados semestralmente. Todos os exames realizados foram negativos para as enfermidades acima.

3.1.3. Imunização Contra Clostridioses

Os *Clostridium* são bastonetes, gram-positivos, anaeróbios estritos e formadores de esporos. São encontrados na forma viva (célula vegetativa) ou dormente como esporos (MERCK, 2014). As doenças causadas por clostrídios podem ser divididas em três tipos principais: doenças neurotóxicas, botulismo e tétano; doenças histotóxicas, carbúnculo sintomático, gangrena gasosa e hemoglobinúria bacilar; e doenças entéricas, enterite necrosante e hemorrágica, e enterotoxemia (SANTOS et al., 2019). As cepas patogênicas podem ser adquiridas por animais suscetíveis tanto por ferida contaminada quanto por ingestão. As doenças que podem ser produzidas são constantes ameaças à produção bem-sucedida de animais de criação em várias partes do mundo (MERCK, 2014).

A medida profilática contra clostridioses era realizada nos animais que estão no quarentenário com uma dose da vacina Fortress® da Zoetis, sendo aplicados 5mL por via subcutânea na admissão e um reforço com intervalo de 4 semanas e semestralmente nos animais residentes. Assim obtendo imunização contra Carbúnculo Sintomático, Gangrena Gasosa, Enterotoxemia e Hemoglobinúria Bacilar dos Bovinos, pois a vacina na sua composição possui culturas padronizadas e inativadas de *Clostridium chauvoei*, *C. novyi*, *C. haemolyticum*, *C. septicum*, *C. sordellii*, *C. perfringens*, tipos C e D.

3.1.4. Terapia Profilática Contra Leptospirose

A leptospirose se trata de uma zoonose, que pertence ao gênero *Leptospira*. É causada por uma bactéria espiroqueta gram-negativa aeróbia, que possui diversos sorovariantes. Os bovinos podem apresentar três formas da doença, subclínicas, particularmente em vacas não prenhes e não lactantes; Aguda ou subaguda é comumente associada a infecções de hospedeiros casuais e ocorrem durante a fase leptospirêmica da infecção; Crônicas, onde vai se observa sinais clínicos relacionados com a falha reprodutiva, aborto e natimortos, deste modo vai se ter um aumento do número de acasalamento/inseminação para a concepção e do intervalo entre partos (MERCK, 2014).

A presença de *Leptospira* spp. em sêmen de touros, natural e experimentalmente infectados, já foi demonstrada, indicando a possibilidade de transmissão da leptospirose bovina pela monta natural ou pela IA. Vale ressaltar que a técnica da IA libera o sêmen diretamente no útero, fazendo com que eventuais agentes escapem da ação germicida das secreções vaginais e cervicais do estro. Portanto, para prevenir o risco de transmissão de agentes infecciosos é necessário um rígido controle da condição sanitária dos touros doadores e da qualidade do

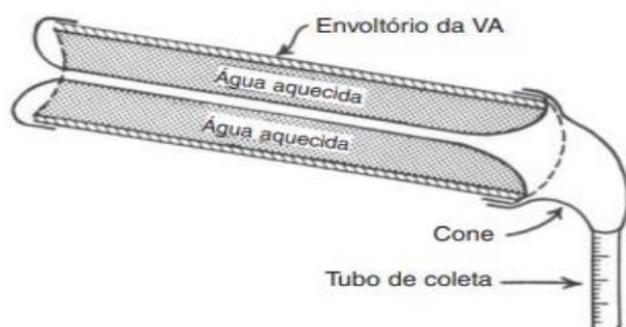
sêmen, desde a coleta até a conservação (SLEIGHT & WILLIAMS, 1961; MAGAJEVSKI et al., 2004 apud GIRIO et al., 2005).

A estreptomicina foi um dos primeiros antibióticos a ser utilizado para a terapia da leptospirose e é considerada, até hoje, uma das melhores opções de tratamento (GIRIO et al., 2005), sendo eficaz no controle da leptospiremia e leptospiúria (KLAASEN; ADLER, 2015). Deste modo a central realiza a prevenção contra a Leptospirose com a aplicação de Sulfato de Estreptomicina na dosagem de 25mg/kg por via intramuscular. Os reprodutores do quarentenário recebem uma dose e um reforço após 14 dias, já os animais residentes são feitos uma nova aplicação do fármaco de forma semestral.

3.2. MONTAGEM DE VAGINAS ARTIFICIAIS

Na rotina das centrais de reprodução o método de coleta com auxílio da vagina artificial é o mais utilizado por simular as condições anatômicas normais da vagina de uma vaca e também por ser o mais simples (VASCONCELOS, 2018). A VA é constituída por um tubo cilíndrico de borracha rígida (envoltório térmico), uma mucosa fina de borracha, um cone de borracha com paredes finas e um tubo de coleta coberto por um protetor de calor. O espaço entre a parede do tubo rígido e a mucosa fina é preenchido com água quente, para manter a temperatura em torno de 45°C. O cone de borracha é adaptado à extremidade do tubo rígido. Na outra extremidade do cone é colocado um tubo de ensaio graduado de 15 ml. Um envoltório térmico é utilizado para garantir uma temperatura de aproximadamente 45 °C no momento da coleta (Figura 15). Na mucosa interna aplica-se um lubrificante estéril (AX et al., 2004).

Figura 15 - Vagina artificial para coleta de sêmen em touros evidenciando seus componentes



Fonte: AX et al., 2004.

Vale ressaltar que para o bovino ter uma liberação do sêmen é necessário ter uma sinalização causada pela vagina que engloba a pressão e a temperatura na glândula peniana. A

temperatura da VA é mais importante do que a pressão que ela exerce sobre o pênis. A água é utilizada para controle de ambas, mas a pressão final pode ser ajustada pelo bombeamento de ar. A temperatura dentro da vagina é próxima de 45 °C, podendo variar de 38 a 55 °C (AX et al., 2004).

As VA's eram montadas em uma sala separada da área da coleta. Inicialmente era fixada a mucosa no tubo da VA com auxílio de tiras de borrachas para evitar que a mesma se soltasse durante a coleta e é acoplado um cone de silicone na extremidade contrária da entrada do pênis com a finalidade de conduzir o sêmen até o tubo falcon que deve ser encaixado na extremidade do cone. Após isso, a VA é preenchida com água a 45°C através da válvula de sua estrutura, esta era fechada e fica mantida em estufa também a 45°, onde fica até o momento da coleta, para evitar que perca calor e prejudique a coleta. No instante da coleta, era utilizada uma capa protetora com temperatura controlada, que mantém o cone e o tubo falcon a 37°C com intuito de evitar choque térmico ao ejaculado (Figura 16). O gel lubrificante era utilizado na extremidade da VA para facilitar a entrada do pênis na mucosa de borracha.

Figura 16 – VA montada com protetor de temperatura ao lado.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

A limpeza das VA's que eram realizadas na sala de limpeza, onde ficam de molho em água e sabão neutro a 3% e eram esfregadas com escova no meio e nas extremidades para

eliminar sujidades. Em seguida, enxaguadas com água deionizada e desinfecção com álcool 70% e secadas a 40°C para serem reutilizadas.

3.3. COLETA DE EJACULADO

As coletas de ejaculado na CCPS Renascer Biotecnologia eram realizadas 4 vezes na semana, com duas baterias de touros, onde uma era coletada na segunda e quinta e a outra na terça e sexta. As particularidades de cada touro eram respeitadas, a fim promover o bem-estar e segurança tanto do animal quanto do técnico durante o momento da realização da técnica.

Existem quatro maneiras de coletar sêmen de um touro: aspirar da vagina de uma vaca recém-criada; utilizar vagina artificial (AV); massagem transretal (RM) das glândulas sexuais acessórias; e eletroejaculação (EEJ) (PALMER, 2005). Deste modo era delimitado o tipo de coleta de cada animal. Também o tipo de estímulos, onde existem três aproximações estimuladoras: a apresentação a um animal para monta no local original; mudança do local com o mesmo animal para monta, ou troca de ambos (local e animal) para monta. Se o macho não saltar após 5 minutos, ele vai requerer mais estímulos para a obtenção de uma boa ejaculação (AX et al., 2004).

Os estímulos dos animais na CCPS eram realizados com auxílios de manequins vivos, como uma fêmea estimuladora, outro macho ou um macho castrado para prévia excitação dos reprodutores, são as formas de maior sucesso para a coleta nas centrais (AX et al., 2004). Em seguida ocorria a coleta de sêmen com o uso de VA quando o animal monta sobre o manequim ou eletroejaculador.

3.3.1.1 Vagina Artificial

O método universal para a coleta de sêmen de rotina das centrais é pela vagina artificial (MIES, 1982). Através dele é permitido que seja mantido a libido normal do macho, a integridade do órgão reprodutor externo, bem como as características biológicas do sêmen (BONADONNA, 1969 apud NEVES, 2015). Desta maneira requer a participação ativa do touro e se aproxima muito de uma situação natural de reprodução, permitindo a avaliação da libido ou da capacidade de acasalamento (PALMER, 2005).

Os animais que eram coletados com VA precisavam passar por uma higienização da parte externa do prepúcio com água e sabão neutro a 5%, bem como, aparagem dos pelos quando estes estivessem com comprimento maior que um centímetro. Assim, inicia o processo de estimulação sexual do reprodutor, já citados acima. Em seguida o animal era levado até o local da coleta com o auxílio das manequins contidas era realizado os desvios pré-ejaculado,

que consiste em um estímulo pré-coleta. O touro saltava sobre o manequim, e era nesse momento que era realizado os desvios com em torno de 2 a 4 montas falsas, onde o pênis do animal era desviado lateralmente com o objetivo de limpar o canal ejaculatório e concentrar o ejaculado.

Posteriormente a isto o reprodutor se encontra apto para a coleta, o responsável pela coleta se posiciona ao lado do animal, juntamente com a VA previamente montada, inflada lubrificada e aquecida. Desta maneira, se espera até o momento da monta, onde era realizado o desvio do pênis para dentro da VA (Figura 17), que era segurada ao longo do flanco do manequim. Quando entrava em contato ambiente, com a textura, pressão e temperatura semelhantes a mucosa interna da vagina o reprodutor realizava o movimento de cópula e ejaculava no interior da VA. Logo após o tubo com sêmen era identificado com o nome animal e o número do ejaculado, e era encaminhado através do óculo de janela dupla até o laboratório. Durante os procedimentos, o operador utilizava luva descartável, no qual era uma para os desvios e uma para a coleta e sempre era trocada de um touro para outro.

Figura 17 – Coleta de ejaculado com VA e auxílio de manequim.



Fonte: Arquivo Pessoal, 2023.

3.3.1.2 Eletroejaculador

O método da eletroejaculação é utilizado para animais férteis impossibilitados de efetuar a monta, podendo ser por problemas locomotores, lesões no prepúcio ou com um temperamento

muito agressivo, que não estão condicionados à vagina artificial. Contudo, essa forma de coleta não permite a investigação de animais com distúrbio da libido (GONÇALVES et al., 2021).

O EEJ consiste na indução da ejaculação por meio da estimulação elétrica da medula no nível da quarta vértebra lombar. O aparelho de eletroejaculação funciona através de eletrodos anelares no reto do animal, no local onde os nervos da pelve que suprem os órgãos reprodutores são estimulados. A voltagem é gradativamente aumentada com pulsos de estimulação rítmicos e repetidos (AX et al., 2004). Se inicia com uma intensidade mais leve para prover a ereção e a liberação do pré-ejaculado (fração menos densa), aplicam-se estímulos mais intensos e de duração mais prolongada para obter o ejaculado. A intensidade dos estímulos varia individualmente conforme a idade (GONÇALVES et al., 2021).

Os animais que eram coletados com o método do EEJ, inicialmente recebiam estímulos visuais e olfativos com auxílio das manequins. Após eram encaminhados para o tronco de contenção, onde era colocado uma cinta na região do esterno com o objetivo de evitar que o animal deite durante a coleta. Em seguida era realizada a limpeza do prepúcio, com água corrente, e do reto do animal para remoção do excesso de fezes para evitar sujidades e contaminação das amostras. A massagem das glândulas anexas era feita por palpação retal para estimulação mecânica do touro, assim era introduzido a probe no reto do animal, propriamente higienizada e lubrificada, com os eletrodos voltados ventralmente para que o estímulo chegue até as glândulas anexas. Simultaneamente outro profissional fica na lateral do animal para realizar a coleta sêmen e para comandar o aparelho.

O EEJ (Figura 18) era ligado em modo automático programado para bovinos com uma escala de 0 a 35 volts, na primeira etapa o animal começa a ficar excitado e expõe o pênis, então é feita a limpeza do mesmo com papel toalha, em seguida o coletador usando luvas descartáveis segura com uma mão o pênis do animal e com a outra o tubo coletor previamente aquecido. Os estímulos aumentam ao decorrer do tempo quando, assim o sêmen é coletado quando a cor da ejaculação começa a tornar turvo, indicando a fração espermática. Após a coleta, removia a probe do reto do animal, e o mesmo era liberado do tronco de contenção sendo encaminhado para seu piquete individual ou para algumas das jaulas na área de coleta, já o sêmen recebe a etiqueta com identificação e é encaminhado para o laboratório. É importante ressaltar que os animais que são coletados mais de uma vez durante o dia eram realizados um intervalo de 30 a 40 minutos entre as coletas.

Figura 18 – EJJ utilizado para coleta de sêmen dos reprodutores.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023

3.4. RECEPÇÃO DO EJACULADO

O volume, aspecto, odor e concentração é avaliado durante a recepção do sêmen. Vale ressaltar que o exame do sêmen se inicia com a avaliação a olho nu, onde o volume do ejaculado varia conforme a idade, raça e método de coleta, bem como as condições individuais de cada reprodutor, podendo ser por manejo ou ambiente. Já o aspecto do ejaculado pode dar uma concentração subjetiva, onde é classificado em cremoso, onde é considerado uma alta concentração espermática (maior ou igual a 1 milhão/mm³) e a aquosa indica baixa concentração (menor ou igual a 0,2 milhão/mm³) ou azoospermia. O sêmen bovino tem um odor parecido com o da gema de ovo, a mudança desse odor geralmente ocorre se tiver a presença de urina no sêmen e em caso de algum processo infeccioso (GONÇALVES et al., 2016).

Durante esse exame macroscópico também pode ser observar presença de outros elementos, como esmegma, piospermia e/ou polutospermia. Tal como a visualização da cor do ejaculado que normalmente é esbranquiçada ou marmórea, mas pode vir a ser amarelado que é considerado normal, por conta da concentração de riboflavinas e de vários tetraterpenos que podem estar presentes na ração. Em caso de uma variação de cor amarelo-esverdeada, é possível ter pus ou urina no sêmen. A presença de sangue no ejaculado também pode ser visualizado através da tonalidade avermelhada do semen (GONÇALVES et al., 2016).

Os ejaculados chegavam até o laboratório identificado com o nome do touro coletado e número do ejaculado, através do óculo de janela dupla, onde ficava em banho-maria seco a 37°C até a recepção e avaliações. No primeiro momento é analisado e anotado em uma ficha de controle, o nome do touro doador, horário, responsável pela coleta, método de coleta e

volume de ejaculado. O volume era delimitado com auxílio uma balança analítica previamente tarada com o peso do tubo coletor sem a tampa e com o rótulo de identificação, assim o peso do ejaculado era obtido e convertido para volume através da multiplicação deste valor por 1,02 (Figura 19).

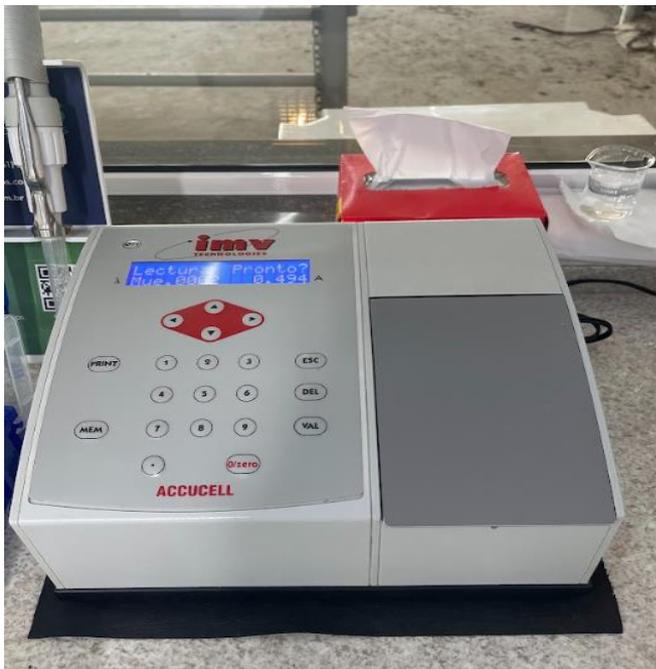
Em seguida se utilizava espectrofotometria (AccuCell, IMV Technologies) para mensurar a concentração do sêmen, e também através desse equipamento era possível ter as informações da quantidade de diluente a ser acrescentado no ejaculado para que se obtenha uma concentração de 20×10^6 espermatozoides por dose, sendo essa concentração definida pela CCPS Renascer Biotecnologia, bem como o número de palhetas obtidas por ele. O AccuCell® (Figura 20) funciona por meio de absorvância da luz através da cubeta preenchida pelo conteúdo, quantificando assim o número de espermatozoides por mL. Para a realização desta análise automática da concentração era necessária uma amostra de $40 \mu\text{L}$ do ejaculado que era pipetado e adicionado em $3960 \mu\text{L}$ de solução fisiológica a 0,9% em uma cubeta de plástico do espectrofotômetro. A variação da concentração ocorre principalmente em virtude do método de coleta do ejaculado. Entretanto, pode ser também pela frequência de colheitas, a época do ano, a raça e o estado nutricional de cada indivíduo (GONÇALVES et al., 2016).

Figura 19 – Área de recebimento com balança analítica para mensuração do volume através do peso do ejaculado e ficha de controle.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023

Figura 20 - Espectrofotômetro para mensuração da concentração de espermatozoides no ejaculado (AccuCell, IMV Technologies).



Fonte: Arquivo pessoal, 2023

3.5. ESPERMOGRAMA

O espermograma é de suma importância para avaliação de um reprodutor, desde a comercialização para monta natural ou para CCPS. Vai ser através deste exame que será avaliado as características físicas, morfológicas e microbiológicas do sêmen, deste modo garante que um sêmen de boa qualidade e maior índices de produção.

3.5.1.1 Análise Imediata

O principal parâmetro para avaliar o sêmen que tem capacidade de fecundar é a motilidade espermática. A avaliação deve ser feita imediatamente após a obtenção do ejaculado. Deste modo a porcentagem de espermatozoides móveis totais vai corresponder o índice de motilidade da amostra, a média de 70% tem sido adotada como valor de referência, vai ter variação de 40 a 80%, dependendo de cada CCPS (GONÇALVES et al., 2016).

Este exame é feito sob um microscópio com o sêmen fresco, mas por conta das altas concentrações espermáticas, se torna difícil discernir padrões de motilidade individual, por tanto se indica a diluição do sêmen em um diluidor de boa qualidade. Vale ressaltar a influência das condições ambientais, podendo ser por excesso de calor ou frio, portanto é necessário manter a amostra em uma temperatura de 35 - 37°C, a fim de proteger o sêmen de condições ou agentes prejudiciais antes da análise (AX et al., 2004).

O vigor da amostra também deve ser avaliado, onde vai ser expressado a velocidade do movimento progressivo do espermatozóide, considerado uma avaliação subjetiva e o resultado deverá ser expresso de zero a cinco, onde o 0 significa a ausência de movimento progressivo; 1, movimento lento; 2, movimento ativo; 3, movimento bastante ativo; 4, movimento muito ativo; e 5, movimento vigoroso. Para efeito de avaliação é sugerido que o vigor seja no mínimo de 3 (GONÇALVES et al., 2016).

Na CCPS esta análise imediata era realizada logo após a recepção do sêmen no laboratório. Para a avaliação efetuava a pipetagem de 10 μ L do ejaculado a fresco em 100 μ L de diluente comercial (OptiXcell®, IMV Technologies) previamente aquecido em um suporte térmico. Em sequência era feito a homogeneização e colocado 10 μ L da amostra para avaliação em microscopia óptica em aumento de 10x entre entre lâmina e lamínula previamente aquecidas em mesa térmica (Figura 21). Os valores de referência da central para o sêmen ser aprovado, eram de motilidade total de no mínimo 70%, avaliada em uma escala de 0 a 100%, e vigor em uma escala de notas de 0 a 5, onde deveria ser igual ou superior a 3. As amostras aprovadas eram encaminhadas para a análise morfológica, enquanto as reprovadas eram descartadas em lixo biológico.

Figura 21 - Área de análise imediata do sêmen com microscópio, mesa térmica e demais equipamentos.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

3.5.1.2 Avaliação da Morfologia Espermática

A avaliação morfológica dos espermatozoides é de suma importância para o espermograma. Deste modo deve se obter uma com uma boa população de espermatozoides do ejaculado para ser possível analisar as anormalidades das células e avaliar a sua influência na fecundação. O impacto dos defeitos pode ser avaliado através do conhecimento da função de cada parte do espermatozoides, assim é possível buscar o local e a forma que essa patologia que está afetando o processo de fertilização daquele sêmen. Estas anormalidades podem ser hereditárias ou adquiridas (FILHO et al., 2021).

No Brasil, atualmente a classificação proposta por Eric Blom na década de 1970, é considerada a melhor definição e caracterização para os diversos tipos de anormalidades espermáticas do ejaculado do touro, bem como a classificação para a interpretação e diagnóstico de um distúrbio (FILHO et al., 2021).

Os defeitos maiores ou principais são considerados mais importantes, pois o diagnóstico está associado com a subfertilidade ou esterilidade. Possivelmente de natureza hereditária, e por decorrerem de alterações a nível testicular. Também pode estar associado a defeitos espermáticos específicos, que podem ou não estar relacionados aos processos degenerativos e inflamatórios dos testículos, mas a defeitos considerados de origem genética (GONÇALVES et al., 2016).

Os defeitos menores ou secundários não influenciam na avaliação da fertilidade do reprodutor, isso significa que não estão diretamente relacionados a processos patológicos dos testículos. Parte desses defeitos é adquirida durante a permanência e a passagem dos espermatozoides pelos epidídimos e pelas vias espermáticas (GONÇALVES et al., 2016).

Para a análise da morfologia espermática era pipetado uma amostra de 10 μ L do ejaculado e diluída em 200 μ L de Formol Citrato e corante Rosa de Bengala. Após homogeneização, 2 μ L dessa amostra passava por avaliação pelo método de câmara úmida, entre lâmina e lamínula, sob microscopia óptica com aumento de 1000x com uso de óleo de imersão.

O sêmen passava por uma contagem de 200 espermatozoides, incluindo as células normais e células com defeitos, sendo eles classificados entre maiores e menores. A amostra para ser aprovada deveria ter no mínimo 70% de células normais, portanto não deveria ter mais que 30% de defeitos totais. Vale ressaltar que os reprodutores residentes passam por uma avaliação morfológica dos espermatozoides semanalmente, mesmo não sendo aprovados na análise imediata, a fim de detectar alterações reprodutivas.

Tabela 2 - Classificação dos Espermatozoides de acordo com a Classificação de Blom, 1972.

Defeitos Maiores:	Defeitos Menores:	Outros:
Estreito na Base	Cabeça Estreita/Gigante	Formas Teratogênicas
Cabeça Piriforme	Implantação Obliqua/Retroaxial	Formas Germinativas
Cabeça Pequena Anormal	Cabeça Isolada Normal	Gota Citoplasmática Distal
Cabeça Isolada Anormal	Cauda dobrada ou enrolada	Implantação Abaxial
Formas Duplas		
Gota Citoplasmática Proximal		
Defeito de Acrossoma		
Diadema (pouch formation)		
Defeitos na Peça Intermediária		
Cauda Fortemente Dobrada		
Cauda Enrolada na Cabeça		
Cauda Enrolada na Cabeça com Gota Citoplasmática		
Distal		
Contorno Anormal		

Fonte: Ana R. Nehls, 2023.

3.6. DILUIÇÃO E ENVASAMENTO

A diluição do sêmen tem o objetivo de proteger os espermatozoides, buscando preservar a vitalidade e elevando o volume total do ejaculado para uma concentração espermática suficiente para o uso do sêmen na IA. Deste modo, os diluentes devem fornecer condições ideais para manutenção das células, não devem conter substâncias tóxicas e/ou teratogênicas e ainda devem ser isentos de contaminação. O sêmen diluído é separado em doses de igual volume e sugere-se que cada dose contenha, no mínimo, 10 milhões de espermatozoides móveis (GONÇALVES et al., 2021).

Na CCPS Renascer Biotecnologia era utilizado o diluente OptiXcell® (IMV Technologies), composto por lipossomas sintetizados em substituição à proteína de origem animal (gema de ovo e leite), este passava por uma diluição de 1:2, onde era colocado 250 mL de diluente + 500mL de água ultrapura. Vale ressaltar que após a homogeneização, o equilíbrio de pH e pressão osmótica dura até 24 horas, assim evitando perdas de diluente.

O OptiXcell® cumpre os objetivos citados anteriormente, que consiste na biossegurança que reduz os riscos de conter microrganismos patogênicos e toxinas prejudiciais. Além disso, permite uma qualidade maior para as avaliações microscópicas e computadorizadas, pois concebe uma vida útil prolongada e evita o choque térmico, por conta das mudanças de temperatura.

Os ejaculados que eram aprovados eram encaminhados para o processo de diluição que consistia em duas etapas. No primeiro momento ocorria a diluição logo após a avaliação imediata, onde adicionava diluente no mesmo mesmo volume do ejaculado (1:1), permitindo uma adaptação das células espermáticas com o meio e manutenção das mesmas enquanto era avaliada a morfologia espermática. Já na segunda etapa realizava a diluição final que consiste na adição do restante do volume de diluente, informado pelo AccuCell com base na concentração e volume do sêmen. Todo esse processo acontecia em banho maria a 34 - 37°C. Após a finalização da diluição o sêmen era levado para o balcão refrigerador em banho maria, assim acontecia a estabilização da temperatura em 4°C, durante um período mínimo de 4 horas (Figura 22).

Figura 22 - Balcão refrigerador utilizado para realização do resfriamento do sêmen, no interior as envasadeiras MRS1 e MRS4



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

O sêmen bovino atualmente é congelado quase exclusivamente em palhetas, que são tubos plásticos de pequeno diâmetro com capacidade para 0,25 mL (palheta fina) ou 0,50 mL (palheta média). Este método garante a melhor manutenção das condições sanitárias e biológicas do sêmen durante a criopreservação. O fechamento de uma das extremidades da palheta ocorre pelo enrijecimento de um tampão de álcool polivinílico, no momento que entra

em contato com o sêmen diluído, no momento do envase. Já a outra extremidade é vedada por uma soldadura. A palheta permite uma identificação permanente, que facilita o armazenamento e o manejo de IA. De acordo com as exigências do MAPA, cada palheta deve conter no mínimo as seguintes informações: número da partida (data da congelação); nome ou número do registro do CCPS; nome e número do Registro Genealógico Definitivo do touro (RGD); e código da raça padronizado internacionalmente (duas letras) (GONÇALVES et al., 2021).

Antes do envase realizava a impressão das palhetas com os dados exigidos pelo MAPA. Em seguida, as palhetas eram colocadas no balcão refrigerado até o momento do envase. Só após o sêmen passava pelo envasamento em envasadoras automáticas, MRS1® ou MRS4® (IMV Technologies), com a capacidade de envasar 1 ou 4 palhetas por vez, respectivamente. Posteriormente as palhetas eram distribuídas em grades com capacidade de 175 palhetas para serem encaminhadas ao processo de congelamento.

3.7. CONGELAMENTO DO SEMÊN

O principal objetivo da preservação do sêmen é obter gestações por IA que sejam tão eficazes quanto as obtidas com sêmen a fresco. A aplicação do procedimento de criopreservação tem obtido melhor resultado em bovinos que em outras espécies domésticas. A integridade da célula depende da curva de congelamento (0 a -196°C), pois se a mesma for muito rápida, não há tempo para que ocorra a desidratação dos espermatozoides, possibilitando a formação de gelo intracelular, prejudicando a célula (AX et al., 2004).

Para o sêmen bovino se tem uma curva definida que tem como objetivo de baixar a temperatura do sêmen em uma velocidade de $0,3-0,5^{\circ}\text{C}/\text{minuto}$ até o sêmen atingir $4-5^{\circ}\text{C}$, assim o sêmen que foi diluído a $34-37^{\circ}\text{C}$ e passa por uma temperatura de 4°C durante 3 a 4 horas, este tempo é denominado tempo de equilíbrio. Este o sêmen é colocado em um freezer de temperatura controlado, estabilizado a 4°C , onde permanece por cerca de 15 minutos exposto ao vapor de nitrogênio líquido à uma temperatura aproximada de -150°C , logo após é mergulhado em nitrogênio líquido a uma temperatura de -196°C , concluindo o processo de congelamento (OHASHI, 2001).

O DigitCool® da IMV Technologies (Figura 23) era utilizado na CPPS para realizar o congelamentos do sêmen, este freezer tem uma temperatura e curva de congelamento controlada e programada, tem capacidade de congelamento de 5250 palhetas. Inicialmente o freezer passava por um refrigeramento até chegar a 4°C , só após colocava as grades com as palhetas, que ficavam cerca de 8 a 10 minutos.

Figura 23 - Freezer de temperatura controlada para congelamento e sêmen, DigitCool® IMV Technologies.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023

O equipamento tem um gráfico com a curva do congelamento com a temperatura teórica (curva modelo), temperatura da câmara e temperatura do produto, essas informações eram obtidas através de uma palheta que é colocada em uma probe localizada no interior do freezer. Esses dados eram visualizados através da tela do computador de comando (Figura 24). A temperatura do freezer atingia a temperatura de -140°C , por meio do vapor de N₂L, após o encerramento do congelamento as palhetas eram retiradas do freezer e imersas em N₂L em um botijão a -196°C , 3 palhetas eram separadas aleatoriamente para a avaliação pós congelamento e o restante aguardava o resultado do teste de qualidade final para serem raqueadas.

Figura 24 - Computador de comando onde se visualizar a curva de congelamento do freezer, com a temperatura teórica em amarelo, temperatura da câmara em vermelho e temperatura do produto em azul.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023

3.8. AVALIAÇÃO PÓS CONGELAMENTO

A avaliação do sêmen pós-congelação representa uma das principais etapas no processamento tecnológico do sêmen. Os padrões qualitativos desejáveis para sêmen de bovinos após a descongelação, segundo o Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA), são de motilidade superior ou igual a 30%, vigor igual ou maior que 3. Também é esperado que a dose de espermatozoides congelados tenha no mínimo 10 milhões de espermatozoides móveis. A partir da avaliação das características seminais de uma dose descongelada, pode ser emitido um laudo técnico que ateste a qualidade da partida de sêmen (GONÇALVES et al., 2021).

A avaliação pós congelamento era realizada de duas formas simultâneas na central. Onde utilizava duas palhetas, escolhidas aleatoriamente, passavam por um descongelamento em descongelador automático a uma temperatura de 36°C por 30 segundos e despejadas em tubo eppendorf aquecido em rack sobre mesa térmica. A primeira análise consistia em uma avaliação subjetiva feita pela MV responsável, onde era retirado 100µL do ejaculado e homogeneizado em 200µL de diluente aquecido para facilitar a avaliação. Após, 10µL da amostra era analisada entre lâmina e lamínula previamente aquecidas em microscopia óptica. Nesse caso o parâmetro para aprovação os touros deveriam possuir uma motilidade total $\geq 35\%$ (em uma escala de 0 a 100%) e vigor ≥ 3 (em uma escala de 0 a 5).

Já a outra forma de avaliação era realizada pelo método de Sistema Computadorizado de Avaliação do Movimento Espermático (CASA) que permite a avaliação exata e objetiva da motilidade, fornece informações precisas e significativas da cinética da célula espermática, determina a porcentagem de células móveis na amostra e quantifica características específicas do movimento espermático, essas informações são obtidas através de um sistema automático com hardware e software (ARRUDA et al., 2011 apud SANTOS et al., 2018).

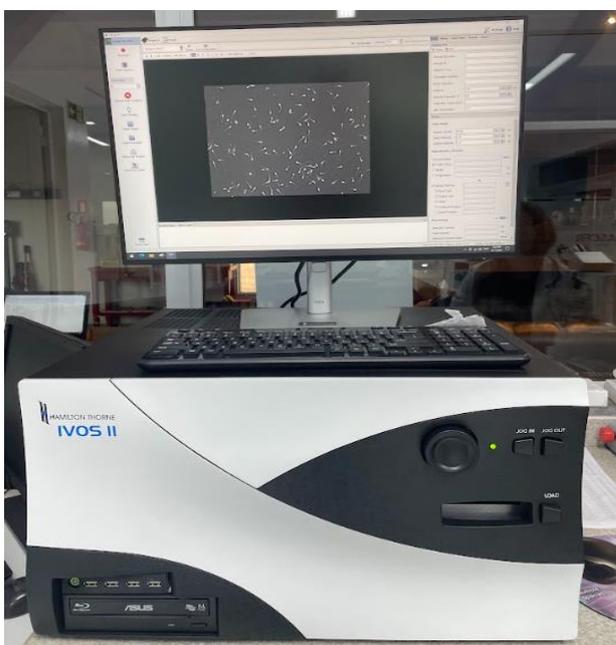
O CASA é composto por uma micrometragem mínima e máxima, é esse programa que identifica os espermatozoides de acordo com a espécie animal. Deste modo as imagens dos espermatozoides são capturadas pelo estroboscópico acoplado ao computador, que digitaliza as imagens, formando um vídeo do trajeto, obtido pelas marcações de pontos, onde a cabeça do espermatozoide está em cada foto e eles são classificados em móvel não progressivo, linear lento, linear rápido e imóvel (BERGSTEIN et al., 2014 apud SANTOS et al., 2018).

A CPPS utilizava o CASA (IVOS II-Hamilton Thorne) para essa avaliação objetiva, se utilizava a mesma amostra diluída da avaliação subjetiva, onde é pipetado 10µL em uma lâmina específica (Leja®, IMV Technologies) para o CASA. Esta era preenchida totalmente com uma

amostra do *pool* já diluído, e posta na mesa térmica da máquina para início da avaliação. Vale ressaltar que todas as análises ficam registradas no software do programa.

A avaliação do CASA (Figura 25) era considerada soberana, portanto, para serem aprovadas a concentração, deveria ser igual ou superior a 20 milhões de espermatozoides/dose, motilidade total e progressiva da amostra, ambas em escala de 0 a 100%, sendo que, para serem aprovadas devem obter motilidade total igual ou superior a 35% e progressiva igual ou superior a 25%. As partidas reprovadas nesta análise eram todas descartadas.

Figura 25 - Sistema Computadorizado de Avaliação do Espermática (CASA; IVOS II-Hamilton Thorne).



Fonte: Arquivo pessoal, 2023

3.9. TESTE DE TERMORRESISTÊNCIA

Os testes funcionais podem ser realizados no sêmen descongelado, onde é avaliado a capacidade de resistência espermática ao estresse térmico. Existem três tipos de teste de termorresistência (TTR): teste lento (cinética espermática avaliada em amostra mantida em banho maria por 300 min a 38°C); teste rápido (cinética espermática avaliada em amostra mantida em banho maria por 30 min a 46°C); e teste fisiológico (cinética espermática avaliada em amostra mantida em banho maria por 180 min a 36°C) (GONÇALVES et al., 2021). O TTR fisiológico é considerado o mais próximo do que o sêmen realmente passa no trato genital das fêmeas em cio (CUNHA et al., 2012).

Na central o TTR fisiológico era realizado com uma palheta escolhida aleatória, que era colocada em um descongelador automático a 36°C, onde permanecia por 3 horas. Após este

processo, o sêmen é homogeneizado em um eppendorf e pipetado para avaliação entre lâmina e lamínula pré-aquecidas sob microscopia óptica (Figura 26). Os parâmetros observados eram a motilidade total que deveria resultar $\geq 20\%$ e vigor ≥ 2 (0 a 5) para serem aprovada. As partidas aprovadas eram liberadas para o raqueamento, armazenamento nos bancos de sêmen e comercialização. Já as reprovadas eram descartadas.

Figura 26 - Microscópio, mesa térmica e demais equipamentos utilizados para TTR.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

3.10. RAQUEAMENTO E ARMAZENAMENTO

O raqueamento é o último processo do sêmen antes de chegar até o cliente, após ser aprovado em todas as etapas citadas acima. Esse processo é realizado manualmente, as palhetas ficam submersas em N2L, evitando o choque térmico e morte das células. Em seguida são colocadas em raques com capacidade para 20 unidades. Também nesse momento é separada as contraprovas (2-8 palhetas) de cada partida de sêmen, assim caso houvesse necessidade de reavaliação é possível realizar. Essas partidas ficam armazenadas nos bancos, onde permanecem até a comercialização.

Figura 27 - Processo de raqueamento, onde palhetas e raques estão imersas em N2L.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023

3.11. MANEJO REPRODUTIVO

O Brasil teve um crescimento no abate total do ano de 2022, totalizando 42,31 milhões de cabeças, além disso foi observado uma redução na idade de abate dos animais, através do menor percentual de bois terminados com mais de 36 meses no total de machos. Também o aumento do rebanho em menor área, gerou um aumento na produtividade, onde teve o crescimento de cerca de 3,3%, estimado em 202 milhões de cabeças, e a redução da área de pastagens em 5,7% para aproximadamente 154 milhões de hectares, aumentou a taxa de ocupação brasileira para 1,32 cabeças por hectares (ABIEC, 2023).

Para acompanhar essa demanda de mercado, algumas biotecnologias estão ganhando cada vez mais espaço, entre elas podemos citar a IATF. Deste modo é possível otimizar a produção e aprimorar a genética na bovinocultura com o auxílio dos protocolos de sincronização de ovulação (BERTON et al., 2022). Os fatores como categoria animal, manejo reprodutivo e reprodutor utilizado na propriedade podem alterar os resultados desejados. Vale ressaltar que se tratando de vacas de corte, uma das formas de maximizar a produção é produzir um bezerro por vaca em um ano (YAVAS; WALTON, 2000). A Estância Renascer para obter essa exigência de mercado, cada dia mais busca implementar o manejo reprodutivo com o objetivo de aumentar os resultados de fertilidade e produtividade do rebanho, através das biotécnicas de reprodução.

3.11.1. Inseminação Artificial em Tempo Fixo

A IATF tem o objetivo de adaptar o ciclo estral de vacas e novilhas através dos hormônios comerciais, assim é possível sincronizar a ovulação (BARUSELLI et al., 2013). Os protocolos evitam a necessidade de detecção de estro para a IA, pois têm como função: controlar o crescimento da onda folicular; regular a função do corpo lúteo (CL) e induzir a ovulação em tempo fixo (SANTOS et al., 2021).

Em 2022 foi observado um aumento no percentual de animais que passaram por IATF, de um percentual de 93% passou para 97,7%. Apesar da queda de 5,3% nas vendas dos protocolos, se observou uma consolidação na utilização do IATF (BARUSELLI, 2023). Entre os hormônios comercializados, pode-se citar a progesterona (P4), análogos de prostaglandina F2 α (PGF2 α) e ésteres de estradiol como o benzoato (BE) e o cipionato de estradiol (CE), também pode se utilizar hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), bem como a gonadotrofina coriônica equina (eCG), vai depender da finalidade desejada do protocolo.

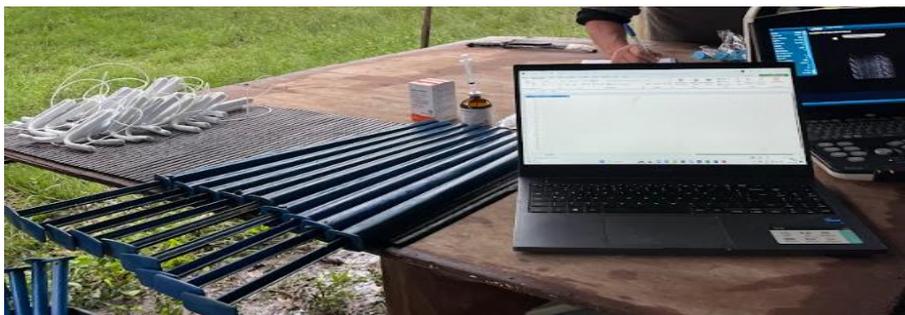
A técnica de IATF gera inúmeros benefícios, entre eles podemos citar a possibilidade de planejar a concentração dos partos, buscando delimitar a época do ano desejada, assim sendo possibilitando lotes homogêneos, facilidade de manejo e comercialização. Além disto é possível agregar genética para rebanho, bem como a eficiência reprodutiva, onde é comprovado que a concepção é antecipada em torno de 1 mês quando comparada com a monta natural, bem como o aumento de cerca de 8% da taxa de prenhez ao final da estação de monta e aumenta o número de vacas prenhez por IA (BARUSELLI et al., 2013).

A redução do intervalo entre parto (IEP) é outra vantagem do programa, pois ocasiona uma involução uterina para serem inseminadas futuramente. Deste modo se observa uma taxa de serviço maior e uma diminuição do período de anestro pós parto, pois se tem uma indução a ovulação. Acarretando em maiores taxas de prenhez e número de bezerros nascidos, também é possível ter uma redução do número de fêmeas descartadas (BARUSELLI et al., 2013).

Os protocolos de IATF's acompanhados durante o ETP, pode ser dividido em dia 0 (D0), onde vai ser o início do programa de sincronização. Para isso era necessário realizar o exame ginecológico completo, onde era avaliado escore de condição corporal (ECC), categoria animal (nulíparas ou multíparas), histórico reprodutivo, avaliação sanitária e do trato reprodutivo. Assim classificando as fêmeas aptas para sincronização e as não aptas (prenhes e descarte, podendo ser por problema no trato reprodutivo e/ou hereditário).

As consideradas eficientes eram submetida ao D0, no qual ocorria a administração de 2 mg/kg/IM de BE por via intramuscular (IM) e colocação de dispositivos intravaginais (DIV) de P4, podendo ser de 1mg em casos de multíparas ou 0,5mg em nulíparas (Figura 28) . O estradiol exógeno tem o objetivo de promover a atresia de pequenos folículos pela diminuição da liberação do hormônio folículo estimulante (FSH), já o P4 atua nos folículos maiores através da inibição a liberação do hormônio luteinizante (LH), deste modo ocorre atresia de todos os folículos independente do tamanho (BÓ E BARUSELLI, 2014).

Figura 28 – Matérias para realização do D0.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

O dia 7 (D7) ou dia 8 (D8), vai ser delimitado através da categoria animal, onde em nulíparas por ter uma maior metabolização, podendo antecipar o cio, assim é realizada no D7 a continuação do protocolo, já as multíparas passam pelo D8, vão ter uma menor metabolização. Esta etapa ocorre a divergência folicular, onde era removido o DIV de P4, e administrado de 0,15mg/kg/IM de PGF2 α com o objetivo de fazer a luteólise do corpo lúteo (CL) e a redução do índice de P4, assim estimula a liberação de LH (FERNANDES et al., 2007). Também realizava a aplicação de 1mg/kg/IM de CE para induzir a ovulação do folículo dominante, através da liberação de GnRH e LH pelo hipotálamo e hipófise, respectivamente (Moenter et al., 1990 apud D'Avila et al., 2019). O volume de eCG era aplicada conforme a categoria dos animais em novilhas administrava-se 300 U.I /kg/IM e em vacas com crias 400 U.I /kg/IM de eCG possui é um hormônio folículo estimulante e luteinizante, pois se liga aos receptores de FSH e LH do folículo (STEWART E ALLEN, 1981; BARUSELLI et al., 2008), assim tem o objetivo de aumentar o diâmetro do folículo pré-ovulatório no momento da IATF, melhorar a taxa de ovulação e aumentar as concentrações plasmáticas de progesterona durante a fase luteal subsequente (SÁ FILHO et al., 2010). Além disso, as vacas eram pintadas com o bastão marcador na região sacrocaudal para identificar o cio (Figura 29).

Figura 29 - Hormônios e tinta para pintura do sacrocaudal no D7.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

A inseminação artificial era realizada no dia 9 (D9) ou dia 10 (D10) conforme a categoria. O intuito da IA é a depositar o do sêmen no aparelho reprodutor da fêmea, através do auxílio de materiais e instrumentos específicos, entre ele podemos citar alguns utilizado

como os aplicadores de sêmen, palhetas de sêmen, bainhas descartáveis de inseminação, descongelador de sêmen, termômetro, botijão com nitrogênio líquido, tesoura e pinça, bem como as condições que permitam obter a fecundação (GONÇALVES et al., 2021) (Figura 30). Os animais que não apresentavam cio, aquelas que continuavam com a tinta na região sacrocaudal passavam por administração de 10,5mcg/kg/IM de GnRh, com a finalidade de gerar a liberação de LH, assim tendo como propósito a ovulação e também atua nos ovócitos para melhora a qualidade e aumenta a taxa de fertilização (SÁ et al., 2023).

Figura 30 – Materiais utilizados para IA no D9



Fonte: Arquivo pessoal, 2023

O ressincronização precoce também chamado de dia 22 (D22) ou ressinc precoce consiste na aplicação de DIV P4 e de 1,5ml de BE por IM, após 22 dias do primeiro IATF em todas as fêmeas independente do diagnóstico gestacional. As vacas submetidas ao D22 passam por diagnóstico gestacional aos 30 dias, assim as que são consideradas vazias seguem o protocolo de IATF que seria a realização do D8, deste modo a IA ocorre com 32 dias. Através do ressinc precoce é possível fazer três inseminações com intervalo de 64 dias (BARUSELLI et al., 2019).

3.11.2. Diagnóstico Gestacional

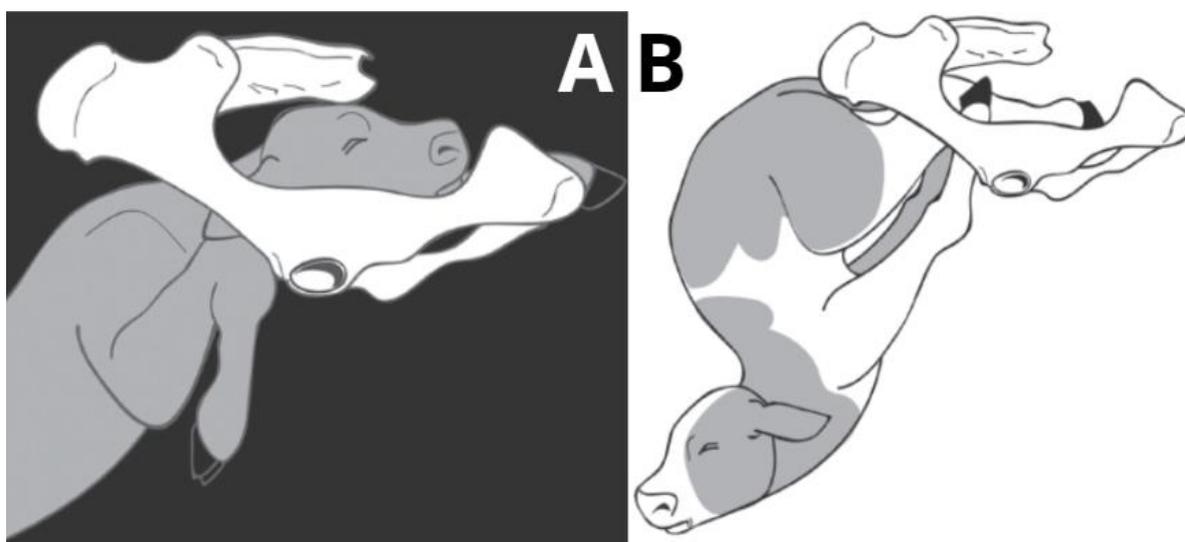
O diagnóstico gestacional na estância era realizado com 30 dias por meio da ultrassonografia, assim possibilitando a identificação da viabilidade fetal, bem como a alteração de útero, permite diferenciar o conteúdo uterino para diagnosticar processos infecciosos, ou seja, possibilita o diagnóstico mais preciso da prenhez e de possíveis alterações no trato reprodutivo da vaca (EMBRAPA, 2014).

3.11.3. Cesariana

A abordagem da cesariana pode vir a ocorrer por inúmeros motivos, entre eles distocias fetais de impossível correção, fetos muito grandes, dilatação insuficiente do canal do parto, enfisema e monstrosidade fetal. Esta técnica tem como objetivo a remoção cirúrgica do feto vivo ou casos de feto morto e enfisematoso (PRESTE, 2022).

Durante o ETP foi possível auxiliar em duas cesarianas, onde um dos fetos se encontrava vivo, em posição longitudinal anterior, posição superior, flexão parcial da articulação escápulo-umeral unilateral e a progenitora apresentava pouca dilatação no canal do parto (Figura 31, A e Figura 32). Já na segunda intervenção o feto estava morto, e era muito grande para passar pela via fetal, resultando em dilatação insuficiente, apresentação fetal era verticoventral (Figura 31, B). Ambas as situações não se obtiveram sucesso nas manobras obstétricas e se optou pela técnica cirúrgica paramediana ventral ou também conhecida como paramamária.

Figura 31 – Posição que os fetos se apresentavam. A - Posição longitudinal anterior, posição superior, flexão parcial da articulação escápulo-umeral unilateral e B- Apresentação verticoventral.



Fonte: PRESTES, 2022.

Figura 32 – Apresentação do feto com vida.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

No pré operatório ambas as matrizes passaram por sedação com Acepromazina 1% (0,05 mg/IM) e imobilizadas com cordas em decúbito lateral direito. Na região da linha média e a veia abdominal subcutânea, onde se estende do umbigo caudal até a glândula mamária (HENDRICKSON E BAIRD, 2017), realizou a lavagem e a tricotomia da área com água e Digluconato de Clorexidina 20%, após a antisepsia foi realizada com Iodo 2,25% e Álcool 70%. Em seguida o Cloridrato Lidocaína 2g + Epinefrina 0,002g (1mg/kg) era infiltrado como anestésico local na linha de secção.

Durante o trans- operatório ocorreu a incisão com o bisturi de aproximadamente 30 cm em direção longitudinal no local da paramamária (Figura 33, A), onde iniciou a secção na seguinte ordem: pele, fáscia dos músculos reto abdominal, oblíquo interno do abdome, transverso abdominal e peritônio (HENDRICKSON E BAIRD, 2017). Logo depois da entrada na cavidade peritoneal, buscava-se o corno uterino onde se localizava o feto e o exterioriza parcialmente, após se seccionar o útero na região mais próxima da ponta do corno na curvatura maior e sob o membro posterior, deste modo evitando os grandes vasos e as carúnculas. Desta maneira o feto ficava exposto (Figura 33, B).

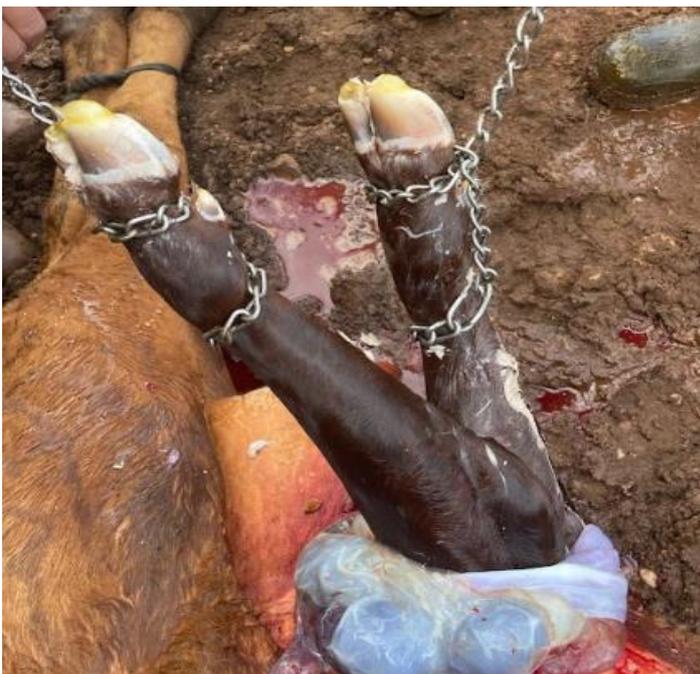
Figura 33 - Trans- operatório da técnica de paramamária. A – Início da secção do local. B – Exposição do feto através da secção da ponta do corno na curvatura maior, sob os membros.



Fonte: Pedro H. Auzani, 2023.

O feto era removido com auxílio de correntes obstétricas colocadas sob o boleto e metacarpo, assim evitando possíveis traumas ortopédicos (Figura 34). O feto da primeira matriz era uma fêmea e se encontrava com vida foi necessário realizar a massagem torácica, bem como o levantamento pelos membros pélvicos e a limpeza das narinas, com o objetivo de eliminar os líquidos aspirados, já no segundo caso o feto era um macho, logo após remoção foi verificado os parâmetros vitais que confirmaram que o animal se encontrava em óbito (Figura 36 e 37).

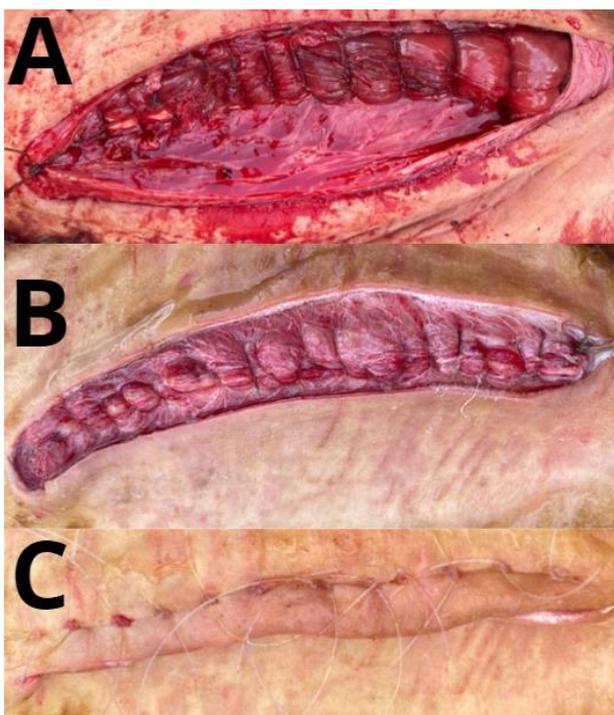
Figura 34 – Correntes obstétricas colocadas sob o boleto e metacarpo.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023

Logo após a remoção, fazia retenção do útero com o objetivo de evitar que os fluidos fetais entrassem na cavidade peritoneal e os restos fetais soltos eram removidos. A seguir era realizada a histerorrafia, onde na primeira camada utilizava o padrão Cushing, antes do fechamento do último ponto colocava Cloridrato de Tetraciclina 1,0g + Excipientes efervescente 7,0 g (Ginovet®), 2 tablete/animal/IU/SID, intuito de evitar ou tratar a infecção uterina. Já a segunda síntese do útero utilizava a Lembert, ambas realizadas com catgut n°3. Assim retornava o útero para a cavidade. Na miorrafia e no peritônio usava o padrão Reverdin (Figura 35, A), a sutura contínua simples era utilizada para diminuição de espaço morto, assim se realizava no subcutâneo com ancoragem na muscular (Figura 35, B). Todas as citadas acima utilizavam o catgut cromado, número 4. A dermorrafia era com nylon 0,70mm através da sutura de Wolff (Figura 35, C).

Figura 35 – Padrão de suturas utilizados na paramâmria. A – Padrão Reverdin para miorrafia, B – Sutura Contínua Simples para redução de espaço morto e miorrafia e C – Padrão Wolff para dermorrafia



Fonte: Arquivo pessoal, 2023

No pós operatório aplicava pomada a base de permetrina 0,5 g + Óxido de Zinco 20 g + Butóxido de Piperonila 3,5 g + Excipiente q.s.p 100 g sobre a ferida, servindo como repelente contra as moscas, assim evitando as miíases (Unguento) (Figura 3) e administrava Benzilpenicilina Potássica 20.000.000 UI + Sulfato de Gentamicina 1,660 g + Veículo q.s.p 30 mL (Gentopen®), na dose de 0,05mg/kg/IM a cada 24h por 3 dias, Meloxicam 1,0 g + Dipirona

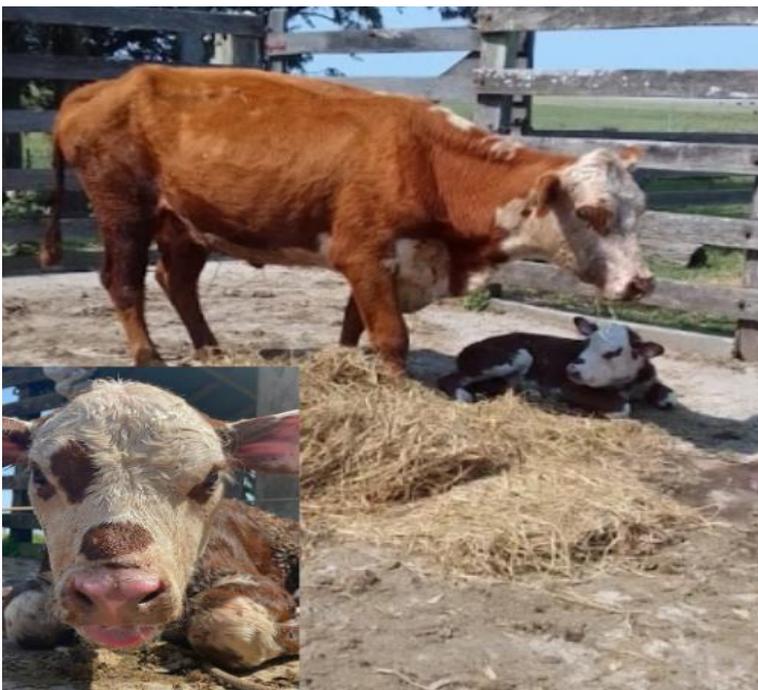
Sódica 50,0 g + Veículos q.s.p 100,0 mL (Prador®), 0,04mg/kg/q 24h/IM por 3 dias, Flunixin Meglumine 8,3g + Veículos q.s.p 100,0 mL, 1,1mg/kg/q 24h/IM por 3 dias (Flumax®) e o pontos da pele removidos em 10 dias. Ambas as progenitoras e prole tiveram prognóstico satisfatório (Figura 36 e 37). Vale ressaltar que a técnica descrita acima preferida em muitos casos por conta da completa exteriorização do útero, deste modo facilita a extração de fetos grandes, mortos ou enfisematosos (HENDRICKSON E BAIRD, 2017).

Figura 36 – Aplicação de Unguento sob a ferida da progenitora e seu feto sem vida.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023

Figura 37 – Paciente pós- operatório e sua prole com vida.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023

4. RELATO DE CASO

CORRELAÇÃO ENTRE OS DEFEITOS MAIORES E AS TAXAS DE PREENHEZ NA IATF

ANA ROBERTA NEHLS ¹

CECÍLIA MACHADO PAVIN ²

MAYARA COSTA OYHENARD ³

MARIA ISABEL BOTELHO VIERA ⁴

NATÁLIA MEREGALLI ZANCANARO ⁵

PEDRO HENRIQUE SANTOS AUZANI ⁶

RICARDO ZANELLA ⁷

¹*Graduando do curso de Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo.*

²*Médica Veterinária - Supervisora do ETP e Responsável Técnica CCPS Renascer Biotecnologia.*

³*Médica Veterinária Responsável pelo Laboratório da CCPS Renascer Biotecnologia.*

⁴*Docente do Curso de Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo.*

⁵*Médica Veterinária Responsável pelo Laboratório da CCPS Renascer Biotecnologia.*

⁶*Médico Veterinário Responsável pela Estância Renascer.*

⁷*Docente do Curso de Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo.*

RESUMO

O mercado cárneo vem se desenvolvendo cada dia mais, e para acompanhar as exigências dos consumidores e produtores vem sendo amplamente utilizadas as biotécnicas reprodutivas, em destaque a IATF. A busca pela comercialização de sêmen criopreservado com potencial de fecundação que geram bons índices de prenhez, melhoramento genético e rentabilidade torna-se o objetivo das CCPS. Para chegar até esses resultados essas células passam por análises criteriosas, entre elas a avaliação morfológica, sendo possível observar os defeitos que podem ocasionar impactos sobre a fertilidade. O presente estudo teve como objetivo a avaliação do índice de prenhez de 44 multíparas, submetidas ao protocolo de IATF utilizando sêmen de um reprodutor de elevado valor genético, porém com alta porcentagem de diadema (9,5 %), e que apresentou resultados satisfatórios pós IA. Deste modo, comprovando algumas teorias e a capacidade de fecundação.

Palavras-chave: Andrologia; Diagnóstico gestacional; Patologia espermática; Reprodução; Sincronização; Vacúolo.

INTRODUÇÃO

O Brasil é o segundo país com maior rebanho bovino no mundo (ABIEC, 2023). Atualmente para manter essa colocação é necessário ter aprimoramento da bovinocultura, como a aplicação de biotecnologia da reprodução, sendo a Inseminação Artificial em Tempo Fixo a biotécnica mais utilizada (BARUSELLI et al., 2013). Para obtenção de bons resultados na IATF, é essencial profissionais, matrizes e protocolos qualificados, além da utilização de sêmen de boa qualidade. Para isto é fundamental o controle adequado nos CCPS, comercializando um produto apto para reprodução.

Entre as avaliações realizadas pela CCPS, a morfológica espermática é indispensável para decidir o destino do ejaculado, tendo como objetivo avaliar a anatomia da célula espermática, permitindo uma avaliação parcial da capacidade de fertilização desta célula. Diferentes fatores interferem na morfologia espermática, como por exemplo alterações clínicas, climáticas e nutricionais. E considerando que a maior parte dos defeitos são causados durante a espermatogênese, ou seja, nos 61 dias que antecedem a coleta de sêmen (RAHMAN et al., 2018), é fundamental que esta aconteça corretamente, evitando assim alterações morfológicas, metabólicas, imunológicas ou genéticas (ARRUDA et al., 2015).

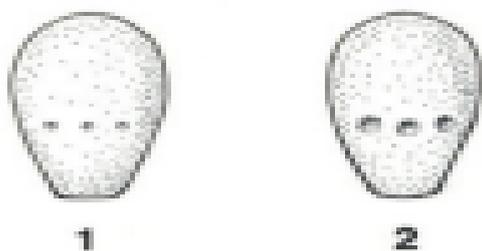
A patologia espermática tem como finalidade classificar os tipos defeitos observados, de acordo com Blom (1972), os defeitos podem ser classificados em maiores e menores, onde os maiores estão relacionados com a subfertilidade ou esterilidade, e geralmente decorrem de alterações e/ou injúrias a nível testicular ou de epidídimo (GONÇALVES et al., 2016). Os principais defeitos maiores são: subdesenvolvimento, formas duplas, knobbed head, diadema, alterações na cabeça (formato ou tamanho), acrossoma ou peça intermediária, além da presença de células com cauda fortemente dobrada ou enrolada (ARRUDA et al., 2015). Já os defeitos menores estão relacionados com fertilidade do reprodutor, e não engloba os processos patológicos dos testículos, sendo considerados menos relevante, geralmente atribuídos a permanência e a passagem dos espermatozoides pelos epidídimos e pelas vias espermáticas (GONÇALVES et al., 2016), dentre estes defeitos, destacamos: cabeça normal destacada e cauda dobrada ou enrolada (ARRUDA et al., 2015).

Segundo o manual do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, os valores ideais para liberação do sêmen que passa pela avaliação morfológica é de no mínimo 70% de espermatozoides normais, onde os defeitos maiores podem chegar até no máximo 20%, e defeitos menores 30%. Além disto deve se observar os defeitos individuais, onde é possível ter a mesma anormalidade em 5% dos defeitos maiores e 10% para defeitos menores (FRENEAU, 2011).

Dentre os defeitos maiores, destacamos a presença de vacúolos na cabeça dos espermatozoides. A vacuolização ocorre no momento da espermiogênese, última etapa da espermatogênese onde ocorre a diferenciação morfológica do espermatozoide, e pode ser causada por estresse ambiental e/ou climático ocasionando uma degeneração testicular leve. Existem evidências de que pode ter origem hereditária em alguns touros (PERRY, 2021). Além disso, pode ser ocasionado por evento acidótico e/ou tratamento com glicocorticoide (ARRUDA et al., 2015). Vale ressaltar que esse defeito ocorre com mais frequência em touros que tem cruzamento com *Bos indicus* quando comparado com *Bos taurus* (TAYLOR, 2020).

Existem três formas de vacuolização, entre elas a anormalidade chamada de diadema que é um arranjo de vacúolos, localizada na cabeça do espermatozoíde, na região pós-acrossomal, formando um “colar de pérolas” (Figura 38). Este defeito afeta o DNA, deste modo a uma redução da fertilidade, mas vale ressaltar que a comprovação das deficiências pelas quais estes espermatozoides não seriam competentes para fertilizar não foi totalmente esclarecida (FRENEAU, 2011)

Figura 38 – Ilustração de diadema.



Fonte: Chenoweth, 2005.

O presente estudo teve como objetivo avaliar a taxa de prenhez de fêmeas submetidas a IATF com sêmen apresentando elevado índice de células com diadema.

MATERIAIS E MÉTODOS

O projeto ocorreu na Barra do Quaraí, RS, no período de julho a outubro. Iniciou na CCPS Renascer Biotecnologia, onde aconteceu a coleta de sêmen do touro da raça Braford, que apresentava histórico de altos níveis de espermatozoide com diadema, a cerca de 1 ano. A coleta ocorreu através do método de VA, logo após realizou-se o spermograma, com análise imediata da motilidade, vigor e patologia (Figura 39), o sêmen foi diluído e submetido ao processo de criopreservação, sendo avaliado logo após o descongelamento, conforme Tabela 3.

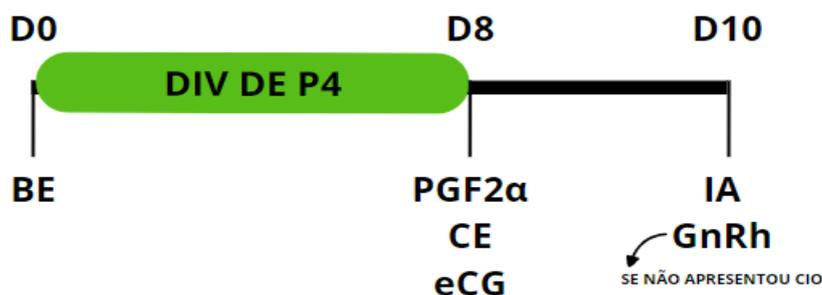
Figura 39 – Avaliação de morfologia através de microscopia óptica com aumento de 1000x e diluição do sêmen em Formol Citrato e corante Rosa de Bengala, sendo possível observar 5 células com diadema do touro doador, na CPPS Renascer Biotecnologia.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

Para avaliar a taxa de prenhez, foram submetidas 44 vacas ao protocolo de IATF, onde os animais passaram pelo D0 que consistiu na avaliação ginecológica completa, assim selecionando as vacas aptas, após administrado 2 mg/kg/IM de BE, DIV de P4 1mg/IV. No D8 aplicado PGF2 α 0,15mg/kg/IM, CE 1mg/kg/IM, eCG 400 U.I /kg/IM e pintura na região sacrocaudal para identificação de cio. Já no D10 aconteceu a aplicação de GnRh 10,5mcg/kg/IM nos animais que não apresentaram cio (continuavam com a tinta região sacrocaudal), bem como a IA com o sêmen do touro. Realizou-se a ultrassonografia após os 30 e 60 dias de IA.

Figura 40 – Esquema do protocolo de IATF.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023

RESULTADOS

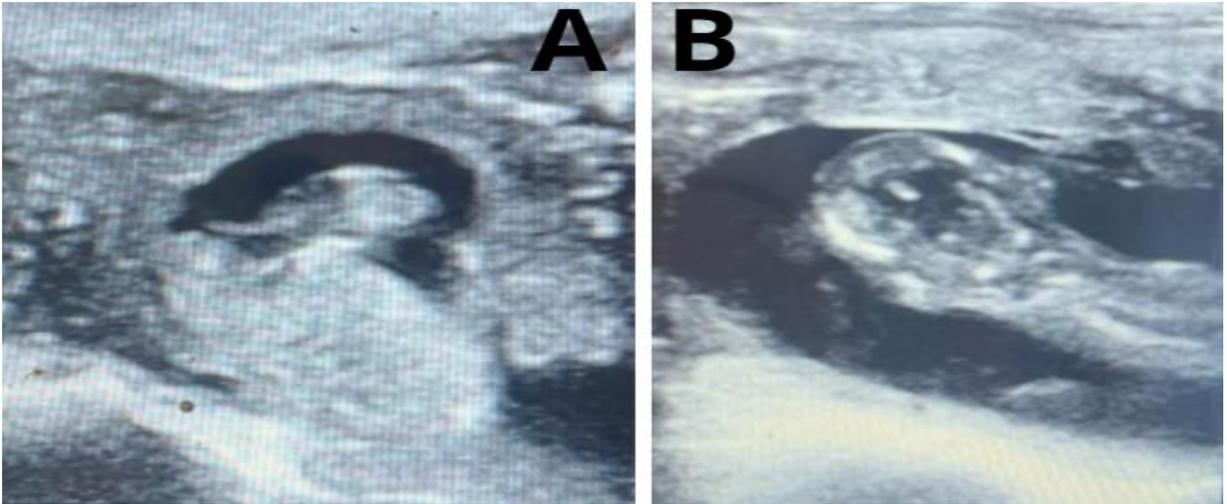
Com intuito de avaliar a fertilidade dos espermatozoides foi realizado o IATF, estas partidas de sêmen utilizadas apresentavam o espermograma da Tabela 3. No diagnóstico gestacional das 44 vacas sincronizadas, obteve 57,09% de prenhe com 30 dias (Figura 40, A), tendo assim 25 futuras progenitoras e 19 falhadas e na segunda avaliação com 60 dias obteve 56,09%, ocorrendo somente 1 absorção (Figura 40, B).

Tabela 3 – Laudo dos resultados obtidos do espermograma.

2. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS	
Volume do Ejaculado: 3,4 mL	Motilidade Progressiva: 75%
Vigor (0 – 5): 3	Concentração: 605 x 10 ⁶ Espermatozoides/mL
3. PROCESSAMENTO	
(x) Congelamento	() Resfriamento
Meio utilizado: Diluente Optix Cell	
Volume da dose: 0,25mL	Concentração: >20 x 10 ⁶ Espermatozoides/Dose
4. AVALIAÇÃO PÓS-CONGELAMENTO OU RESFRIAMENTO	
Motilidade total: 40%	Vigor (0 – 5): 2
Concentração: 20,1 x 10 ⁶ Espermatozoides/Dose	
Teste de Termo Resistência (TTR):	
Motilidade: 20%	Vigor (0 – 5): 2
5. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS	
Contorno Anormal: 0,5%	Cabeça Isolada Normal: 1%
Defeitos de Acrossoma: 0,5%	Cauda Enrolada: 5%
Diadema: 9,5%	
Defeitos na Peça Intermediária: 1,5%	
Cauda Fortemente Enrolada: 1%	
Cauda Enrolada na Cabeça: 1%	
Defeitos Maiores: 14%	Defeitos Menores: 6%
Outros Elementos: _____%	Espermatozoides Normais: 80%

Fonte: CCPS Renascer Biotecnologia, 2023.

Figura 41 – Diagnóstico gestacional através de ultrassonografia. A – 30 dias de gestação e B - 60 dias de prenhez



Fonte: Arquivo pessoal, 2023

DISCUSSÃO

O reprodutor da raça Braford, utilizado no trabalho, apresentou o defeito maior, diadema, desde a sua chegada na central, em torno de 1 ano. Conforme Taylor et al, 2020, o cruzamento com *Bos indicus* têm maior propensão a desencadear a patologia, sendo o touro da raça Braford, composta por 3/8 Zebu e 5/8 Hereford. Nesta raça, observa-se um genótipo com mais suscetível a esta anormalidade. Esta suscetibilidade também pode ser induzida através de situações de estresse ambiental, assim se tem uma diminuição da produção de testosterona pelas células de Leydig, após um aumento de cortisol induzido por estresse, reduzindo o LH circulante, neste caso sendo uma patologia transitória, podendo estar presente em grande número em um ejaculado e desaparecer em ejaculados subsequentes (ARRUDA et al., 2015). Pelo fato de o reprodutor apresentar o defeito por um longo período, com pequenas variações na quantidade, acredita-se que a alteração é de base genética (PERRY, 2021).

O reprodutor já havia passado anteriormente por inúmeros tratamentos, com o intuito de reduzir para aos 5% aceitos de um mesmo defeito, mas sem sucesso. Por ultrapassar os parâmetros de referência utilizados, o sêmen não foi liberado para comercialização antes de obter resultados de prenhez. Em estudo anterior, destacou-se que o nível de vacúolos nucleares não deve ultrapassar 20%, pois pode trazer resultados negativos para fertilização (THUNDATHIL, 2001). Nossos resultados colaboram com este achado, visto que a partida utilizada demonstrou 9,5% de diadema, não comprometendo a fertilidade do doador.

A teoria de Thundathil et al, 2001 é que a redução da fertilidade causada pela célula com diadema, venha a ocorrer principalmente em monta natural, pois o espermatozoide é depositado na vagina, assim tem dificuldade de atravessar o trato reprodutivo da fêmea até chega no ovócito. Já no caso da IA o sêmen é introduzido no corno uterino, assim tendo mais facilidade de chegar até o oócitos. Por este motivo é considerado uma anormalidade compensatória quando utilizado nas biotecnologias reprodutivas, pois acredita-se que esse espermatozoide defeituoso tenha dificuldade em fazer a ligação com a zona pelúcida, mas aquele espermatozoide que consegue acessar faz a fecundação e desenvolvimento fetal (SAACKE, 2008). Deste modo, pode-se explicar o resultado obtido com o experimento citado acima.

CONCLUSÃO

A morfologia espermática é considerada um dos fatores mais importantes para avaliação da fertilidade dos touros, principalmente para CCPS que buscam entregar resultados para seus clientes. Porém existem controvérsias sobre os inúmeros defeitos encontrados, e as consequências deles. O presente trabalho demonstrou um bom índice de prenhez através da utilização de sêmen com mais de 5% de diadema. Desta maneira, a CCPS deve estar conectada sempre com o campo, assim observando se os resultados obtidos são satisfatórios para o produtor. Bem como, a possibilidade de comercialização das partidas.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Durante o ETP foi possível vivenciar o avanço das biotecnologias da reprodução da bovinocultura de corte. Assim acompanhando o aprimoramento da pecuária, através do melhoramento genético, padronização de rebanho e produção em grande escala. Sendo vivenciado o ciclo completo da fabricação de terneiros, desde a coleta e processamento do sêmen criopreservado, as necessidades e parâmetros para seu congelamento e comercialização até a técnica de IATF. Desta maneira, toda a prática realizada a campo durante o estágio foi associada com o conhecimento teórico adquirido durante a jornada acadêmica.

Portanto, para atuar na área da biotecnologia da reprodução, é preciso estar em constante aperfeiçoamento, sempre vinculados com busca por conhecimento. Pois, ainda se tem muitas incógnitas sobre o desenvolvimento espermático e evoluções sobre a reprodução bovina é continua para atender a demanda do mercado consumidor. Para alcançar o objetivo de entregar cada vez mais lucratividade ao produtor e melhor produto final á população, a carne bovina.

REFERÊNCIAS

- ABIEC, Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes. Beef Report 2023: Perfil da Pecuária no Brasil. Abiec, 2023, Cap 01. Disponível em: https://www.abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2023-capitulo-01/#dfliip-df_5327/7/. Acesso em: 15 out. 2023.
- ABIEC, Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes. Beef Report 2023: Perfil da Pecuária no Brasil. Abiec, 2023, Cap 03. Disponível em: <https://www.abiec.com.br/wp-content/uploads/Final-Beef-Report-2023-Cap03.pdf/>. Acesso em: 15 out. 2023.
- ALVES; VILLAR, A. J. S; S, K.. Brucelose Bovina e sua situação sanitária no Brasi. Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP, São Paulo, v. 9, n. 2, p. 12-18, nov./2011. Disponível em: <file:///C:/Users/anane/Downloads/364-Texto%20do%20artigo-335-1-10-20130725.pdf>. Acesso em: 11 out. 2023.
- ARRUDA, R. P., et al. Morfologia espermática de touros: interpretação e impacto na fertilidade: Bull sperm morphology: interpretation and impacto n fertility. Rev. Bras. Reprod. Anim., Belo Horizonte, v. 39, n. 1., p. 47-60, jan./mar. 2015. Disponível em: [http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v39n1/pag47-60%20\(RB572\).pdf](http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v39n1/pag47-60%20(RB572).pdf). Acesso em: 20 out. 2023
- AX, R.L et al. Avaliação Seminal. In: HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. Reprodução Animal. 7. ed. Barueri/SP: Manole, 2004. cap. 25, p. 369-379. ISBN 85-204-1222-X.
- AX, R.L et al. Inseminação Artificial. In: HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. Reprodução Animal. 7. ed. Barueri/SP: Manole, 2004. cap. 26, p. 381-394. ISBN 85-204-1222.
- AX, R.L et al. Inseminação Artificial. In: HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. Reprodução Animal. 7. ed. Barueri/SP: Manole, 2004. cap. 26, p. 383. ISBN 85-204-1222. Figura
- BAKER, John C.. The clinical manifestations of bovine viral diarrhea infection. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, East Lansing, Michigan, v. 11, n. 3, p. 425-445, nov./1995. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0749072015304606>. Acesso em: 20 set. 2023.
- BARUSELLI, P. et al. Review: Using artificial insemination v. natural service in beef herds. Animal, ão Paulo, SP, v. 12, n. 1, p. 45-52, dez./2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S175173111800054X>. Acesso em: 23 out. 2023.
- BARUSELLI, P. S. et al. IATF em números: evolução e projeção futura. Rev Bras Reprod Anim, Belo Horizonte, MG, v. 46, n. 2, p. 76-83, jun./2022. Disponível em:

<http://cbra.org.br/portal/downloads/publicacoes/rbra/v46/n2/RB1016%20Baruselli%20p.76-83.pdf>. Acesso em: 18 out. 2023.

BARUSELLI, P.S et al. Com desaceleração de 5% em 2022, mercado da IATF registra primeiro recuo em 20 anos. Boletim Eletrônico do Departamento de Reprodução Animal/FMVZ/USP, 7a ed., 2023. Disponível em: <http://vra.fmvz.usp.br/boletim-eletronico-vra/> Acesso em: 20 out. 2023

BARUSELLI, Pietro Sampaio et al. History, evolution and perspectives of timed artificial insemination programs in Brazil. Animal Reproduction. Belo Horizonte: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2012. Disponível em: [http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/animalreproduction/issues/download/v9n3/pag139-152%20\(AR536\).pdf](http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/animalreproduction/issues/download/v9n3/pag139-152%20(AR536).pdf). Acesso em: 26 out. 2023

BARUSELLI, P. S. et al. Avanços conceituais aplicados à IATF em vacas de cria. I Texto preparado para a VIII Jornada NESPRO, Porto Alegre, RS, Brasil., v. 1, n. 1, p. 33-49, set./2023. Disponível em: https://www.ufrgs.br/nespro/arquivos/anais_jornadas/anais_viii_jornada_nespro_2013.pdf#page=34. Acesso em: 15 out. 2023.

BERTON et al. Impacto da qualidade de sêmen sobre os resultados da IATF. Rev. Bras. Reprod. Anim , Campinas, SP, v. 46, n. 2, p. 84-90, jul./2022. Disponível em: <http://cbra.org.br/portal/downloads/publicacoes/rbra/v46/n2/RB1017%20Berton%20p.84-90.pdf>. Acesso em: 17 out. 2023.

BERTON, T. I. U. et al. Impacto Da Qualidade De Sêmen Sobre Os Resultados Da IATF. Rev Bras Reprod Anim, Campinas, SP, v. 46, n. 2, p. 84-90, jun./2022.

BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S.. Synchronization of ovulation and fixed-time artificial insemination in beef cattle. The Animal Consortium, The Animal Consortium, v. 8, n. 1, p. 144-150, abr./2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1751731114000822?via%3Dihub>. Acesso em: 17 nov. 2023.

CALLAGHAN, M. J. et al. Subacute ruminal acidosis reduces sperm quality in beef bulls. Journal of Animal Science, Champaign, v. 94, n. 8, p. 3215-3228, ago./2016. Disponível em: <https://doi.org/10.2527/jas.2015-0235>. Acesso em: 12 nov. 2023.

CHENOWETH; J., Peter. Genetic sperm defects. Journal of Animal Reproduction, Charleston, Carolina do Sul, EUA, v. 64, n. 3, p. 457-468, ago./2005. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X05001627> . Acesso em: 18 out. 2023.

D'AVILA, C. A. et al. Hormônios utilizados na indução da ovulação em bovinos – Artigo de revisão. *Rev. Bras. Reprod. Anim*, Belo Horizonte, MG, v. 43, n. 4, p. 797-802, dez./2019. Disponível em: <http://www.cbra.org.br/portal/downloads/publicacoes/rbra/v43/n4/P797-802%20-%20RB821%20-%20Camila%20Amaral%20D%20Avila.pdf>. Acesso em: 19 out. 2023.

de Veterinária. 10. ed. São Paulo: ROCA, 2014. cap. 11, p. 1463. ISBN 978-85-4120-310-4. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/978-85-412-0437-8/>. Acesso em: 17 out. 2023.

EMBRAPA. Brucelose e tuberculose bovina: epidemiologia, controle e diagnóstico. 1. ed. [S.l.]: Embrapa, 2004.

FERNANDES, C. A. D. C; FIGUEIREDO, A. C. S. D. Avanços na utilização de prostaglandinas na reprodução de bovinos. *Rev Bras Reprod Anim*, Belo Horizonte, MG, v. 31, n. 3, p. 406-414, set./2007. Disponível em: <http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/download/406.pdf>. Acesso em: 1 nov. 2023.

FILHO, M. S. et al. Resynchronization with unknown pregnancy status using progestin-based timed artificial insemination protocol in beef cattle. *Theriogenology*, Boulogne Billancourt, France, v. 81, n. 2, p. 284-290, set./2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.09.027>. Acesso em: 1 out. 2023.

FRENEAU, G.e.. Aspectos da morfologia espermática em touros. *Rev. Bras. Reprod. Anim*, Belo Horizonte, MG, v. 35, n. 2, p. 160-170, jun./2011. Disponível em: <http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v35n2/RB370%20Freneau%20pag160-170.pdf>. Acesso em: 1 nov. 2023.

GIVENS, M.D.; HEATH, A.M.; CARSON, R.L. et al. Analytical sensitivity of assays used for detection of bovine viral diarrhoea virus in semen samples from the Southeastern United States. *Vet. Microbiol.*, v.96, p.145-155, 2003. Acesso em: 15 out. 2023.

GUIMARÃES, M. M. et al. Aspectos morfofisiológicos e biotécnicas aplicadas à reprodução de novilhas bovinas e búfalas pré-púberes . *Rev Bras Reprod Anim*, Belo Horizonte, MG, v. 46, n. 3, p. 272-289, set./2022. Disponível em: <http://cbra.org.br/portal/downloads/publicacoes/rbra/v46/n3/RB894%20Guimaraes%20p.272-289.pdf>. Acesso em: 18 out. 2023.

HENDRICKSON, Dean A.. Técnicas cirúrgicas em grandes animais. 4. ed. [S.l.]: Grupo GEN, 2013. p. 258-265.

IBGE, 2023. Produção da Pecuária Municipal 2022: Barra do Quaraí. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/rs/barra-do-quarai/pesquisa/18/16459>. Acesso em: 10 set. 2023.

IBGE, 2023. Produção da Pecuária Municipal 2022: Uruguaiana. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/rs/uruguaiana/pesquisa/18/16459>. Acesso em: 10 set. 2023.

JÚNIO, M. M. D. S. S. D. O. A UTILIZAÇÃO DE GNRH NO MOMENTO DA IATF. Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação- REASE, ISSN: 2675 – 3375 , v. 9, n. 5, p. 3296-3307, jun./2023. Disponível em: <https://doi.org/10.51891/rease.v9i5.10118>. Acesso em: 3 out. 2023.

KJ, Stafford. Electroejaculation: a welfare issue?. Surveillance, Nova Zelândia, v. 22, n. 2, p. 15-17, jan./1995.

KLAASEN; ADLER, H.I.B.M.; B.. Recent advances in canine leptospirosis: focus on vaccine development. Veterinary Medicine: Research and Reports, London, v. 6, n. 1, p. 245-260, jun./2015. Disponível em: <https://doi.org/10.2147/VMRR.S59521>. Acesso em: 10 out. 2023.

KOMIYA, A. et al. Sperm Nuclear Vacuoles in relation to Acrosome Reactions and Sperm Motility. Scientific World Journal, Toyama, Japão, v. 2014, n. 178970, p. 1-20, jun./2014. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/tswj/2014/178970/>. Acesso em: 1 nov. 2023.

LAGE, A. P. et al. Manual Técnico Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal (PNCEBT). 1. ed. Brasília: BINAGRI, 2006. p. 51-60.

LARSEN, Rolf E.; CHENOWETH, Peter J.. Diadem/crater defects in spermatozoa from two related angus bulls. Molecular Reproduction and Development, ISSN:1098-2795, v. 25, n. 1, p. 87-96, jan./1990. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/mrd.1080250115>. Acesso em: 11 nov. 2023.

LIMA, F. et al. Economic comparison of natural service and timed artificial insemination breeding programs in dairy cattle. Journal of Dairy Science, Flórida, Gainesville , v. 93, n. 9, p. 4404-4413, ago./2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030210004662>. Acesso em: 15 out. 2023.

MAPA. Brucelose e Tuberculose. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/saude-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/pncebt/brucelose-bovina#:~:text=A%20brucelose%20%C3%A9%20uma%20zoonose,infectados%20podem%20conter%20bact%C3%A9rias%20vi%C3%A1veis>. Acesso em: 14 set. 2023.

- MASCITTI, A. et al. Pesquisa do vírus da diarreia viral bovina em touros mantidos a campo no estado do Rio Grande do Sul: subtítulo do artigo. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* : subtítulo da revista, Belo Horizonte, MG, v. 69, n. 3, p. 766-770, jun./2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1678-4162-9097>. Acesso em: 11 out. 2023.
- MELLO, R. et al. Utilização da gonadotrofina coriônica equina (eCG) em protocolos de sincronização da ovulação para IATF em bovinos: revisão. *Rev. Bras. Reprod. Anim*, Belo Horizonte, MG, v. 38, n. 3, p. 129-134, set./2014. Disponível em: [http://cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v38n3/pag129-134%20\(RB503\).pdf](http://cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v38n3/pag129-134%20(RB503).pdf). Acesso em: 23 out. 2023.
- MERCK. Infecções Generalizadas: Clostridioses. In: MERCK. Manual Merck de Veterinária. 10. ed. São Paulo: ROCA, 2014. cap 5, p.652. ISBN 978-85-4120-310-4. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/978-85-412-0437-8/>. Acesso em: 17 out. 2023.
- MERCK. Infecções Generalizadas: Leptospirose. In: MERCK. Manual Merck de Veterinária. 10. ed. São Paulo: ROCA, 2014. cap 5, p.699. ISBN 978-85-4120-310-4. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/978-85-412-0437-8/>. Acesso em: 17 out. 2023.
- MERCK. Sistema Reprodutivo: Brucelose em Grandes Animais. In: MERCK, Manual Merck de Veterinária. 10. ed. São Paulo: ROCA, 2014. cap. 11, p. 1459. ISBN 978-85-4120-310-4. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/978-85-412-0437-8/>. Acesso em: 17 out. 2023.
- MERCK. Sistema Reprodutivo: Campilobacteriose Genital Bovina. In: MERCK. Manual Merck MERCK. Vesiculite seminal em touros. In: MERCK. Manual Merck de Veterinária. 10. ed. São Paulo: ROCA, 2014. cap 5, p.699. ISBN 978-85-4120-310-4. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/978-85-412-0437-8/>. Acesso em: 23 out. 2023.
- MILLER, D. et al. Infertility in a bull with a nuclear sperm defect: A case report. *Theriogenology*, Boulogne Billancourt, France, v. 17, n. 6, p. 611-621, jun./1982. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(82\)90059-0](https://doi.org/10.1016/0093-691X(82)90059-0). Acesso em: 10 nov. 2023.
- MONTEIRO, Silvia Gonzalez. Parasitologia na medicina veterinária. 2. ed. Rio de Janeiro: Grupo GEN, 2017. p. 133-135.
- PALMER, C. et al. Comparison of electroejaculation and transrectal massage for semen collection in range and yearling feedlot beef bulls. *Animal Reproduction Science*, Canada, v.

87, n. 2, p. 25-31, jun./2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.09.004>. Acesso em: 1 set. 2023.

PALMER, C.W.; BRITO, L.F.C.; ARTEAGA, A.A. et al. Comparison of electroejaculation and transrectal massage for semen collection in range and yearling feedlot beef bulls. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 87, p. 25-31, out./2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.09.004>. Acesso em: 1 out. 2023.

PALMER, Colin W.. Welfare aspects of theriogenology: Investigating alternatives to electroejaculation of bulls.; subtítulo do artigo. *Theriogenology*: subtítulo da revista, Boulogne Billancourt, France, v. 64, n. 3, p. 469-479, ago./2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.05.032>. Acesso em: 1 out. 2023.

PELLEGRIN, Aiesca Oliveira; LEITE, Rômulo Cerqueira. Atualização Sobre Tricomose Genital Bovina. 1. ed. Corumbá, MS: EMBRAPA, 2003. p. 8-20.

PERRY, V.E.A.. The Role of Sperm Morphology Standards in the Laboratory Assessment of Bull Fertility in Australia: subtítulo do artigo. *Frontiers in Veterinary Science*: subtítulo da revista, Australia, v. 8, n. 1, p. 1-8, mai./2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.672058>. Acesso em: 5 nov. 2023.

PILIP, R. et al. In vitro fertilizing characteristics of bovine spermatozoa with multiple nuclear vacuoles: A case study. *Theriogenology*, Boulogne Billancourt, France, v. 46, n. 1, p. 1-12, jun./1992. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(96\)00136-7](https://doi.org/10.1016/0093-691X(96)00136-7). Acesso em: 10 nov. 2023.

PRESTES, Nereu Carlos; LANDIM-ALVARENGA, F. D. C. Obstetrícia veterinária. 2. ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2017. p. 185-190.

PS, B. et al. Genetic market in cattle (Bull, AI, FTAI, MOET and IVP): financial payback based on reproductive efficiency in beef and dairy herds in Brazil. *Animal Reproduction*, Florianópolis, SC, Brazil, v. 15, n. 3, p. 247-255, ago./2018.

PUGLIESI, G. et al. Uso da ultrassonografia Doppler em programas de IATF e TETF em bovinos. *Rev. Bras. Reprod. Anim*, Belo Horizonte, MG, v. 41, n. 1, p. 140-150, mar./2017. Disponível em: [http://www.cbra.org.br/portal/downloads/publicacoes/rbra/v41/n1/p140-150%20\(RB662\).pdf](http://www.cbra.org.br/portal/downloads/publicacoes/rbra/v41/n1/p140-150%20(RB662).pdf). Acesso em: 1 nov. 2023.

RAHMAN, M. B. et al. Heat stress responses in spermatozoa: Mechanisms and consequences for cattle fertility. *Theriogenology*, 2018. Acesso em: 1 nov. 2023.

RODRIGUES, W. B. et al. Ação da Prostaglandina F2 α como indutor de ovulação em vacas de corte submetidas a protocolos de IATF. *Rev. Bras. Reprod. Anim*, Belo Horizonte, MG, v. 41, n. 1, p. 374-374, mar./2017. Disponível em:

<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/164861/1/4-PDFsam-resumos-congresso-cbra-p374-e-433-bovinos1.pdf>. Acesso em: 1 nov. 2023.

SAACKE, R.g.. Sperm morphology: Its relevance to compensable and uncompensable traits in semen. *Theriogenology*, Boulogne Billancourt, France, v. 70, n. 3, p. 473-478, ago./2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.04.012>. Acesso em: 11 nov. 2023.

SALES, J. N. D. S. et al. Fatores que impactam na eficiência reprodutiva de vacas de corte. *Rev Bras ReAnim*, Belo Horizonte, MG, v. 47, n. 2, p. 101-106, jun./2023. Disponível em: <http://cba.org.br/portal/downloads/publicacoes/rbra/v47/n2/RB%201047%20Sales%20p.101-106.pdf>. Acesso em: 16 nov. 2023.

SANTOS, G. M. G. D. et al. Importância dos índices reprodutivos e fundamentos do programa de IATF em sistemas de cria. *Rev Bras Reprod Anim*, Belo Horizonte, MG, v. 45, n. 4, p. 210-218, dez./2021. Disponível em: <http://cba.org.br/portal/downloads/publicacoes/rbra/v45/n4/p.210-218.pdf>. Acesso em: 10 out. 2023.

SANTOS, G. M. G. D. et al. Importância dos índices reprodutivos e fundamentos do programa de IATF em sistemas de cria. *Rev Bras Reprod Anim*, Belo Horizonte, MG, v. 45, n. 4, p. 210-218, dez./2021. Disponível em: <http://cba.org.br/portal/downloads/publicacoes/rbra/v45/n4/p.210-218.pdf>. Acesso em: 15 nov. 2023.

SANTOS, I. W. D; NEVE, Jairo Pereira. IAGNÓSTICO DE GESTAÇÃO NA VACA PELA ULTRA-SONOGRAFIA. *Cienc. Rural*, Santa Maria, RS, v. 24, n. 2, p. 365-369, mai./1994. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-84781994000200027>. Acesso em: 23 set. 2023.

SANTOS, J. F. D. et al. Qualidade do sêmen bovino criopreservado: subtítulo do artigo. *Revista espacios: subtítulo da revista*, Venezuela, v. 39, n. 14, p. 1-18, jan./2018. Disponível em: <https://www.revistaespacios.com/a18v39n14/a18v39n14p18.pdf>. Acesso em: 11 set. 2023.

SANTOS, L. M, et al. Carbúnculo Hemático. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária* – ISSN: 1679-7353, n.10, jan. 2008. Disponível em: http://www.faeF.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/xcnEgwSWEHnk5RO_2013-5-29-10-51-49.pdf. Acesso em: 27 out. 2023

SANTOS, R. D. L; ALESSI, Antonio Carlos. *Patologia veterinária*. 2. ed. [S.l.]: Grupo GEN, 2016.

SESSIM, Amir Gil; WOLF, Manuela Leal; CANOZZI, M. E. A. Diagnóstico de gestação em sistemas de cria: utilidades. *NESPro UFRGS*, Porto Alegre, RS, v. 4, n. 1, p. 1-1, abr./2018.

Disponível em: <https://www.ufrgs.br/nespro/wp-content/uploads/2021/04/nt4-diagnostico-gestacao.pdf>. Acesso em: 25 set. 2023.

SILVA et al. Avaliação de dois diluentes e diferentes técnicas de criopreservação de sêmen bovino. PUBVET, Londrina, v. 5, n. 19, p. 1-34, set./2015. Acesso em: 15 out. 2023.

TAYLOR, J. F. et al. Effect of breed, age, season and region on sperm morphology in 11,387 bulls submitted to breeding soundness evaluation in Australia. Theriogenology, Boulogne Billancourt, France, v. 142, n. 1, p. 1-7, fev./2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.09.001>. Acesso em: 8 nov. 2023.

THUNDATHIL, J. et al. Fertilizing characteristics of bovine sperm with flattened or indented acrosomes. Animal Reproduction Science, Áustria, v. 67, n. 3, p. 231-243, set./2001. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(01\)00127-0](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(01)00127-0). Acesso em: 5 nov. 2023.

VASCONCELOS et al. Aspectos microbiológicos do sêmen de bovinos mantidos em central de reprodução animal. Veterinária Notícias, Uberlândia, MG, v. 24, n. 1, p. 43- 56, abr./2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/VTN-v24n1-2018.4-X>. Acesso em: 15 out. 2023.

VICENTE, F. R. Controle e erradicação da brucelose bovina. Monografia. Lages: Universidade do Estado de Santa Catarina. 2006, p. 39.

WALZ et al., 2010WALZ, P.H.; GROOMS, D.L.; PASSLER, T. et al. Control of bovine viral diarrhoea virus in ruminants. J. Vet. Intern. Med., v.24, p.476-486, 2010. Acesso em: 15 out. 2023.

YAVAS, Y.; WALTON, J.s.. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: A review. Theriogenology, Boulogne Billancourt, France, v. 54, n. 1, p. 25-55, jul./2000. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(00\)00323-X](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(00)00323-X). Acesso em: 10 out. 2023

ANEXOS

Certificado

Certificamos que

Ana Roberta Nehls

Realizou estágio na Central de Congelamento e Processamento de Sêmen Bovino, **Renascer Biotecnologia**, no período de: 17/07/23 à 21/10/2023 totalizando 480 horas.

Barra do Quaraí, 16 de novembro de 2023.


Cecília Machado Pavin
Médica Veterinária


Natasha Frasson Pavin
Bioquímica

BR 472, Km 615, Distrito de Guterrez - Barra do Quaraí/RS - (55) 999.993.141
contato@renascerbiotecnologia.com.br - www.renascerbiotecnologia.com.br

RENASCER
BIOTECNOLOGIA

