

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

DESCRIÇÃO SUCINTA DAS PESQUISAS COM REPRODUÇÃO DE RUMINANTES REALIZADAS PELO INSTITUTO DE ZOOTECNIA/APTA¹

RAFAEL HERRERA ALVAREZ²

¹Recebido para publicação em 01/04/09. Aceito para publicação em 15/06/09.

²Polo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios do Centro Sul (PRDTA), Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo (SAA), Rod. SP 127, Km 30, Caixa postal 28, CEP 13400-970, Piracicaba, SP, Brasil. E-mail: rherrera@apta.sp.gov.br

RESUMO: A presente revisão objetivou analisar os resultados das pesquisas desenvolvidas pelo Instituto de Zootecnia na área de reprodução dos ruminantes no período de 1970 a 2008. Para tanto, foi realizado um levantamento bibliográfico dos artigos publicados nessa área por pesquisadores do Instituto de Zootecnia e selecionados aqueles que contribuíram com destaque para o avanço do conhecimento da fisiologia reprodutiva e tecnologias da reprodução. Foi evidenciado que, mais que gerar informações na fronteira do conhecimento, o IZ tem contribuído significativamente para a validação de tecnologias reprodutivas, com destaque para as relacionadas com as áreas de inseminação artificial e transferência de embriões no Brasil.

Palavras-chave: Instituto de Zootecnia, ruminantes, tecnologias da reprodução

AN BRIEF OVERVIEW OF RUMINANT REPRODUCTION RESEARCHES CARRIED OUT BY THE INSTITUTO DE ZOOTECNIA/APTA

ABSTRACT: The aim of this article was to review the researches on ruminant reproduction carried out by the Instituto de Zootecnia between 1970 and 2008. A bibliographic search of articles was made and selected the most relevant concerning the physiology and technology of reproduction. It was evidenced that, more than produce basic information for the advancement of knowledge, the Instituto de Zootecnia has been able to improve reproductive methodologies related to artificial insemination and embryo transfer technologies in Brazil.

Key words: Instituto de Zootecnia, ruminants, reproduction technologies

INTRODUÇÃO

A rentabilidade de qualquer sistema de produção animal depende, basicamente, da eficiência do desempenho produtivo, da qualidade do produto e, principalmente, da eficiência reprodutiva, uma vez que a matéria prima necessária para realizar as características produtivas é dependente do processo reprodutivo. Em razão disso, nos sistemas de produção animal, estima-se que o aumento da eficiência

reprodutiva é 10 a 20 vezes mais importante do que o melhoramento da qualidade do produto (Barbosa, 2003).

A otimização da reprodução implica, por um lado, a adoção de práticas adequadas de manejo (sanitário, alimentar, etc.) e de melhoramento genético (seleção de animais com valor genético superior à média do plantel) e, por outro lado, a possibilidade de controlar os processos reprodutivos, por meios naturais,

farmacológicos ou inclusive pela manipulação de gametas e embriões.

Apoiado nessa lógica, o Instituto de Zootecnia (IZ), órgão de pesquisa da Secretaria de Agricultura e Abastecimento (SAA) do Governo do Estado de São Paulo vem realizando estudos na área de reprodução animal desde sua criação oficial, em 1970 (SANTIAGO *et al.*, 1970). É importante mencionar que as ações da SAA destinadas a fomentar a produção animal no estado remontam ao ano de 1905, com a criação do Posto Zootécnico Central na cidade de São Paulo, SP, que, para alguns, seria o marco inicial de origem do IZ (PEDREIRA, 1991). Após diversas reformas organizacionais, o IZ foi criado a partir da ampliação da Divisão de Zootecnia e Nutrição Animal do extinto Departamento de Produção Animal, do qual recebeu como herança a contribuição de excelentes pesquisadores atuando na área de reprodução animal, com destaque para os Drs Armando Chieffi e Leovigildo Pacheco Jordão os quais participaram de forma decisiva na validação e divulgação das tecnologias relacionadas com a inseminação artificial nas décadas de 60 e 70 (SANTIAGO *et al.*, 1970).

A presente revisão objetiva descrever e analisar as pesquisas na área de reprodução de ruminantes desenvolvidas pelo IZ no período de 1970 a 2008, considerando os resultados mais relevantes, seja para o avanço do conhecimento, seja na geração e/ou validação de tecnologias reprodutivas disponíveis para o produtor.

a) Pesquisas com fisiologia reprodutiva e manejo da reprodução

As pesquisas do IZ têm contribuído significativamente para o conhecimento das variáveis que influenciam a fisiologia da reprodução. Em gado de corte, levantamentos realizados, inicialmente, em condições de monta não controlada, mostraram que as partições acontecem durante o ano todo, mas existe uma concentração natural das partições no segundo semestre (DRUDI *et al.*, 1976; BARBOSA *et al.*, 1978). TUNDISI *et al.* (1974) e PACOLA *et al.* (1977) mostraram a viabilidade de reduzir o período da estação de monta, em gado zebu, de 5 para 3 meses. Por sua vez, SANTIAGO *et al.* (1983) e PACOLA e BOIN (1985) mostraram que a estação de monta no período da seca, de Abril a Julho, não reduz a fertilidade das vacas, em comparação ao período das águas, de Outubro a Janeiro, com a vantagem de aumentar a sobrevivência dos bezerras. Para não afetar a fertilidade das vacas que aleitam na seca,

TEDESCHI *et al.* (2002) evidenciaram a necessidade de realizar manejo alimentar adequado, em consequência da escassa disponibilidade de alimento nesse período.

Em gado de leite, SIQUEIRA *et al.* (1975) estabeleceram a duração do período de gestação de vacas holandesas, de 261 a 293 dias e mostraram que o sexo das crias influencia a duração desse período em que fetos machos aumentam em um dia a gestação. PIRES *et al.* (1977) realizaram estudo da eficiência reprodutiva de gado europeu suíço e zebuino guzerá e os seus cruzamentos. A idade à primeira cria da raça dos três grupamentos genéticos foi de 44,1, 43,8 e 33,1 meses ($P < 0,05$), enquanto o intervalo entre partos foi de 455,3, 452,7 e 416,0 dias ($P < 0,05$), respectivamente, mostrando a importância do vigor híbrido para características reprodutivas no gado de leite. Ainda, em gado de leite, ALVAREZ *et al.* (1989b) mostraram a viabilidade técnica do uso de testes imunoenzimáticos para diagnosticar precocemente a gestação, em condições de campo. Embora bastante preciso para detectar fêmeas vazias (>95%) e gestantes (~85%) 21 dias após a inseminação, o teste imunoenzimático da dosagem de progesterona teve como limitante o alto custo unitário. Dessa forma, pesquisas adicionais devem ser desenvolvidas para tornar viável essa tecnologia ao produtor.

Na espécie bubalina, destacam-se os estudos sobre fisiologia da reprodução, desenvolvidos nas estações experimentais do IZ localizadas em Castilho - SP e no Vale do Ribeira - SP. Em Castilho, NOGUEIRA *et al.* (1989) avaliaram o desempenho reprodutivo de búfalos das raças Mediterrâneo e Jafarabadi criadas exclusivamente para a produção de carne na região Noroeste do Estado de São Paulo. Os autores constataram que a fertilidade variava de 73 a 84% e a idade à primeira parição de 1169 a 1094 dias, sendo que 85% das partições acontecerem nos meses de Fevereiro a Abril, confirmando a estacionalidade reprodutiva da espécie. No Vale do Ribeira, BARUSELLI *et al.* (1996) estudaram a capacidade de recuperação pós-parto do útero de búfalas e observaram que a involução uterina acontece em aproximadamente 25 dias. Essa volta relativamente rápida à normalidade uterina testemunha a rusticidade e a boa capacidade reprodutiva dessa espécie. Em outro estudo, BARUSELLI *et al.* (1997) acompanharam, por ultra-sonografia, a dinâmica folicular durante a estação reprodutiva dos animais (outono) e concluíram que o crescimento folicular acontece em forma de ondas, semelhante ao padrão observado em outros ruminantes. Cada ciclo estral é

composto de 1, 2 ou 3 ondas foliculares, sendo o mais comum o ciclo com 2 ondas. Foi evidenciado, nesse estudo, que a fase luteínica está associada ao número de ondas, que, por sua vez, condicionam a duração do ciclo estral. Essas informações estabeleceram as bases para o controle da reprodução dos bubalinos, seja para o planejamento das coberturas controladas, na estação de monta, seja na implementação de programas de inseminação artificial (IA).

Na espécie ovina, após um experimento de cinco anos, PRUCOLI e BACCARI JR. (1967) determinaram que, no estado de São Paulo, a primavera é a estação mais adequada para realizar a monta nas raças Merino, Ideal e Corriedale. Posteriormente, RODA *et al.* (1993) realizaram estudos para determinar a viabilidade de implantação de um sistema de acasalamento a cada oito meses de ovelhas de raça Ideal, Corriedale e Suffolk. Após 4 anos de estudos, os autores concluíram que é possível estabelecer um sistema de acasalamento nos meses de Janeiro, Setembro e Maio, o qual resulta em três parições a cada dois anos. Por outro lado, RODA e OTTO (1990) avaliaram a suplementação alimentar pré-acasalamento na prolificidade dos ovinos. Os autores demonstraram que o "flushing" aumentou a frequência de parições gemelares em 22% na raça Corriedale e 30,5% na raça Ideal.

b) Pesquisas com biotecnologia da reprodução

b-1) Inseminação Artificial

No início de suas atividades, o IZ teve a IA como foco principal das pesquisas com reprodução animal. Esse direcionamento específico de pesquisa foi provavelmente justificado pela importância da IA como ferramenta de difusão de material genético e controle de doenças da reprodução. Na década de 70, países da Europa e América do Norte (EUA e Canadá) já mostravam bons resultados no aumento da produção, principalmente de leite, devido à IA com sêmen de touros submetidos a rigorosos programas de avaliação e seleção genética (ALVAREZ, 2007).

No início dos anos 70, o IZ realizava estudos para estabelecer, com precisão, a concentração de espermatozoides no sêmen utilizando o método de espectrofotometria de absorção, como alternativa ao método hematocitométrico (PLUT *et al.*, 1973). Ainda nesse período, FERRAZ e GOUVEIA (1973) estudaram a fertilidade de vacas inseminadas com sêmen resfria-

do de diferentes touros. Os autores não observaram efeito da concentração dos espermatozoides na taxa de prenhez e constataram que determinados touros requerem um menor número de espermatozoides para conseguir uma prenhez. Atualmente, as Centrais de IA consideram o critério de fertilidade dos touros para estabelecer o número de espermatozoides por dose.

Com relação à qualidade do sêmen, quando avaliadas isoladamente as características físicas do ejaculado (concentração de espermatozoides, motilidade espermática, porcentagem de vivos e aspectos morfológicos) não são suficientes para avaliar a qualidade do sêmen (RONCOLETTA *et al.*, 1999). Dessa forma, foram iniciadas as pesquisas visando correlacionar a atividade enzimática e as características do sêmen (FERRAZ *et al.*, 1977), as quais tiveram continuidade nos anos 80, com destaque para os estudos das enzimas transaminases (glutamato oxaloacetato transaminase e glutamato piruvato transaminase) e fosfomonoesterase (fosfatases ácida e alcalina) realizados por CASTRO *et al.* (1983; 1986a; 1986b). Os autores concluíram que a atividade dessas enzimas estava positivamente correlacionada com a qualidade e a congelabilidade do sêmen. Atualmente, algumas centrais de IA do Brasil utilizam a análise bioquímica do sêmen, em complementação aos métodos físicos de avaliação.

Por outro lado, estudos de coleta de sêmen de touros em condições de campo levaram SILVEIRA *et al.* (1978) a modificar o aparelho electroejaculador de van Rensburg e de Vos, substituindo os eletrodos em forma de anel por um cilindro plástico, adaptando-se um voltímetro e um dínamo de bicicleta, movido por uma polia à manivela. Esse equipamento possibilitou realizar coletas de sêmen de boa qualidade em propriedades sem energia elétrica. É importante mencionar que, embora atualmente seja motivo de investigação pela comunidade científica devido a seu impacto no bem estar animal, o exame andrológico dos reprodutores, utilizando a estimulação elétrica para coleta do sêmen, ainda é uma prática zootécnica recomendada para ser realizada no período próximo à estação de monta.

b-2) Pesquisas com sincronização do cio

Os trabalhos sobre sincronização do cio, em bovinos, realizados no IZ, contribuíram para a compreensão dos mecanismos de ação das prostaglandinas e para a validação de novos protocolos para inseminar em tempo fixo, sem a necessidade de observar o cio.

Assim, uma série de experimentos realizados em Nova Odessa mostrou que metade da dose convencional de Cloprostenol (análogo de prostaglandina F_{2α}), aplicada por via intramuscular (im) era suficiente para provocar luteólise, cio e ovulação em vacas (Alvarez *et al.*, 1991a) e novilhas (ALVAREZ *et al.*, 1987a; Alvarez *et al.*, 1991b;) leiteiras. Contudo, os resultados também mostraram que, independentemente da via de aplicação, uma parte significativa (20%) dos animais tratados com um quarto da dose apresentou luteólise parcial (decréscimo dos níveis de progesterona, mas sem ultrapassar o limite de 1 ng/ml), sem ovulação. Esses estudos, posteriormente confirmados por outros autores (FERNANDES *et al.*, 1995; MEIRA *et al.*, 2006), tiveram o mérito de contestar a prática de aplicar a PGF_{2α} (ou seus análogos sintéticos) na mucosa vulvar.

Com relação à sincronização da ovulação e IA em tempo fixo, as pesquisas do IZ foram as primeiras em reproduzir, em gado de leite e bubalinos, os resultados apresentados por PURSLEY *et al.* (1995), da Universidade de Wisconsin, USA. Os resultados desses experimentos confirmaram que o uso do protocolo Ovsynch, baseado na aplicação de GnRH - PGF_{2α} - GnRH, pode resultar em taxas de prenhez semelhantes às observadas no cio natural (BARUSELLI *et al.*, 1999; BARUSELLI *et al.*, 2001; ALVAREZ *et al.*, 2003), sendo uma ferramenta de grande valor para facilitar a prática da IA, tanto em gado de corte como de leite.

b-3) Pesquisas com transferência de embriões e tecnologias correlatas

O IZ foi uma das instituições pioneiras, no Brasil, em trabalhar com transferência de embriões (TE) nas espécies bovina, bubalina e ovina. As pesquisas TE iniciaram no IZ em 1985, devido ao interesse institucional em desenvolver tecnologias destinadas a explorar a via materna dos animais de interesse zootécnico, visando a multiplicar genótipos de maior qualidade genética para características produtivas ou adaptativas. A TE pode ser definida como o conjunto de técnicas de manipulação fisiológica (superovulação, sincronização do cio, controle da ovulação), mecânica (recuperação e transferência de gametas e embriões, micromanipulação), biológica (cultura de oócitos e embriões) e biofísica (criopreservação), capazes de otimizar diversos programas zootécnicos de produção animal (Alvarez, 1989).

Os primeiros resultados dos experimentos reali-

zados no IZ na espécie bovina foram publicados em 1986 e tiveram como objetivo comparar a eficiência dos hormônios gonadotróficos de origem humana (Human Menopausal Gonadotropin- HMG) e suína (Follicle Stimulant Hormone- FSH) para induzir superovulação em vacas zebu (ALVAREZ *et al.*, 1986; ALVAREZ *et al.*, 1987b). Nesses estudos foi confirmado que, da mesma forma que na espécie *Bos taurus taurus*, o tratamento superovulatório em vacas zebu pode ser iniciado de 8 a 12 dias após o cio, sendo os dois hormônios igualmente eficientes.

O uso da gonadotrofina coriônica de origem equina (eCG) foi testado em vacas holandesas de alta produção (ALVAREZ *et al.*, 1989a). Nesse experimento foi avaliado o uso de anticorpos anti-eCG, no período da IA, para neutralizar a ação do eCG, cuja atividade biológica provoca excessiva resposta ovariana e prejudica a qualidade dos embriões. Os resultados desse trabalho mostraram que esse tratamento aumenta a qualidade dos embriões das vacas tratadas com eCG, sendo a produção de embriões comparável ao tratamento com FSH (controle). O interessante desse protocolo foi o baixo preço do eCG e a facilidade de aplicação, pois são necessárias duas injeções, eCG e anti-eCG, contra oito do tratamento FSH.

Um dos principais fatores que condicionam a resposta ovariana aos tratamentos de superovulação é a dominância folicular, em que o maior folículo secreta fatores inibidores do crescimento dos folículos menores. Entretanto, a presença de um grande folículo muitas vezes não resulta em diminuição da resposta ovariana, provavelmente porque o folículo iniciou o processo de atresia (ALVAREZ *et al.*, 1995).

A dificuldade de estabelecer a dominância folicular, considerando unicamente o aspecto morfológico do folículo, levou nossa equipe a considerar a via imunológica para tentar bloquear a dominância folicular. Anticorpos contra líquido folicular bovino (AcLFb) foram produzidos em ovelhas (ALVAREZ *et al.*, 1997a) e testados em novilhas ovariectomizadas (ALVAREZ *et al.*, 1998b). A aplicação de LFb às novilhas castradas reduziu os níveis de FSH a concentrações basais, enquanto o LFb adicionado de AcLFb manteve inalteradas as concentrações de FSH. A estratégia de controlar a dominância folicular utilizando AcLFb foi avaliada em diversos trabalhos de superovulação e coleta de embriões em bovinos (ALVAREZ *et al.*, 1994a; 1998a; 1998c; 1999b). A aplicação de AcLFb (imunização passiva), no momento da superovulação, não influenciou a média de

embriões recuperados ou o padrão hormonal, porém, nenhum embrião foi recuperado em aproximadamente 20% dos animais controle, enquanto que todos os animais que receberam o AcLFb produziram ao menos um embrião viável.

Uma outra abordagem para diminuir a variabilidade da resposta e aumentar o número de embriões consiste em aumentar o número de folículos que respondem ao estímulo hormonal das gonadotrofinas (ALVAREZ, 1989). Para tanto, FSH puro ou acrescentado de LH foi injetado no início do ciclo ("priming") e os animais foram superovulados normalmente no meio do ciclo (CARVALHO *et al.*, 2000). Houve diferença ($P < 0,10$) de embriões produzidos com esse tratamento ($7,5 \pm 0,5$) em comparação ao controle ($5,3 \pm 0,5$). Recentemente, dados preliminares mostraram resultados animadores quando o "priming" com FSH foi substituído por eCG e a superovulação com FSH foi associada a um protocolo de sincronização da onda de crescimento folicular.

A TE foi utilizada, igualmente, para avaliar o efeito da consangüinidade na reprodução, um tema que gera controvérsia. Um rebanho do IZ, com diferentes taxas de endogamia, foi submetido à superovulação e coleta de embriões (ALVAREZ *et al.*, 2005). O grau de endogamia, de até 20%, da doadora não afetou a quantidade de embriões recuperados, porém, o número de embriões transferíveis diminuiu em animais com mais de 9% de endogamia. Essa informação é de particular importância para o planejamento de programas de melhoramento baseados em núcleos de seleção que utilizam o método de Ovulação Múltipla e Transferência de Embriões (MOET) em que os animais podem apresentar altos níveis de endogamia.

Experimentos com superovulação e produção de embriões na espécie bubalina resultaram na obtenção dos primeiros embriões dessa espécie, no Brasil (ALVAREZ *et al.*, 1990). Foi constatada uma boa resposta ovariana aos diferentes hormônios (FSH ou eCG), mas a taxa de recuperação de embriões foi de 1,6 embriões por coleta, sendo esse índice relativamente inferior ao obtido em bovinos. Em estudo posterior, onde foram acompanhados os níveis de progesterona dos animais superovulados, foi sugerido que a baixa produção de embriões podia estar relacionada ao período de ovulação ou à velocidade de trânsito dos embriões no oviduto (ALVAREZ *et al.*, 1994b). Trabalhos paralelos realizados na espécie bovina mostraram que embriões retidos no oviduto no momento da coleta podem explicar a baixa taxa de recuperação em al-

guns animais supeovulados (ALVAREZ *et al.*, 1999a)

As primeiras pesquisas do IZ com TE na espécie ovina foram iniciadas em 1988, no Posto experimental de Ovinos e Caprinos de Itapetininga, SP (ALVAREZ e FEITOSA, 1991). Ovelhas Ideal foram superovuladas com HMG ou eCG após um tratamento de sincronização da onda folicular com esponjas vaginais impregnadas com Acetato de medroxiprogesterona, confeccionadas no IZ. A coleta de embriões foi realizada por via cirúrgica. Em média, foram recuperados 4,8 embriões, dos quais 2,1 viáveis. A transferência de um ou dois embriões em sete receptoras Suffolk, previamente sincronizadas com as doadoras, resultou em quatro gestações e os primeiros cordeiros nascidos no estado de São Paulo com o uso dessa técnica.

O número de embriões produzidos em doadoras submetidas ao processo de superovulação é restrito e altamente variável (ALVAREZ, 1989). Dessa forma, a obtenção de oócitos por punção folicular de ovários, no animal vivo ou após o abate, maturação, fecundação *in vitro* e posterior cultivo até o estágio da transferência (blastocisto), constitui uma alternativa extremamente interessante para a produção de embriões de interesse genético ou comercial. Em anos recentes, o IZ realizou diversos experimentos destinados a aprimorar as técnicas de produção de embriões FIV (COELHO *et al.*, 2002), a identificar a viabilidade dos embriões utilizando métodos bioquímicos (COELHO *et al.*, 1998a) e citogenéticos (Pires *et al.*, 2005). Igualmente, a técnica de FIV foi empregada como uma ferramenta de avaliação da capacidade fecundante do sêmen de reprodutores destinados para IA (COELHO *et al.*, 1998b).

O IZ desenvolveu experimentos destinados à preservação de oócitos e embriões (ALVAREZ *et al.*, 1991c), ao aproveitamento de embriões de qualidade inferior após estratégias de cultura *in vitro* antes da transferência em receptoras (ALVAREZ *et al.*, 2008), bem como à micromanipulação de embriões visando aumentar a eficiência de produção de gêmeos monozigóticos (ALVAREZ *et al.*, 2008).

c) Pesquisas com citogenética associada à reprodução

PIRES *et al.* (1985; 1994) estudaram a incidência de anomalias cromossômicas em raças européias, chamando a atenção para a translocação robertsoniana 1/29 e o quimerismo. No caso de gado zebuino, PIRES *et al.* (1999) relataram, pela primeira vez, a presença

do mosaicism 59,X0/60, XX/61, XXX e sua implicação na eficiência reprodutiva. Atualmente, o IZ realiza avaliações periódicas dos reprodutores destinados à coleta de sêmen das principais centrais de IA do estado de São Paulo, evitando, assim, a possibilidade de difundir determinadas anomalias genéticas ao resto da população.

CONSIDERAÇÕES FINAIS.

A análise retrospectiva dos produtos tecnológicos resultantes das pesquisas com reprodução das espécies ruminantes de interesse zootécnico nesses quase 40 anos de atividades, confirma o empenho da instituição em oferecer informações tecnológicas nessa área de conhecimento. As realizações no passado tornam otimistas as perspectivas para que, no futuro, o IZ possa continuar a cumprir com seu papel de Estado, isto é: gerar, validar e difundir informações e/ou tecnologias que possam ser capazes de otimizar os sistemas de produção animal, e, dessa forma, contribuir na obtenção de ganhos, econômicos e/ou logísticos, para o produtor.

AGRADECIMENTOS

À bibliotecária do IZ, Maria de Fátima pelo auxílio no levantamento das publicações nas revistas BIA e Zootecnia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVAREZ, R.H. Transferência de embriões em bovinos, conceitos básicos e estado atual de desenvolvimento. **Zootecnia**, v. 48, n. 3, p. 149-159, 1989.
- ALVAREZ, R.H. **Considerações sobre o uso da inseminação artificial em bovinos**. Disponível em <<http://www.iz.sp.gov.br/artigo.php?id=65>> Acessado em 05/05/2008.
- ALVAREZ, R.H.; AGUIAR, A.F.; STRASSBURGER, J. Ciclo estral regular e produção de embriões em vacas da raça nelore superovuladas com HMG. **Zootecnia**, v. 25, n. 3, p. 265-273, 1986.
- ALVAREZ, R.H. et al. Short-term culture of bovine bisected embryos. effects on pregnancy rates, sex ratio and birth weight of calves. **Boletim de Indústria Animal**, v. 65, n. 3, p. 191-196, 2008.
- ALVAREZ, R.H.; AMBROSANO, G.M.B.; CASTRO, T.A.G. Controle da atividade biológica do PMSG para fins de superovulação de vacas doadoras de embriões. **Boletim de Indústria Animal**, v. 46, n. 2, p. 241-247, 1989a.
- ALVAREZ, R.H. et al. Fertilidade de vacas e novilhas leiteiras inseminadas no cio induzido com mini-dose de cloprostenol aplicada pela via intramuscular. **Boletim de Indústria Animal**, v. 48, n. 1, p. 19-22, 1991a.
- ALVAREZ, R.H.; CARVALHO, J.B.P.; ARRUDA, R.P. Resposta ovariana de vacas Mantiqueira superovuladas na presença ou ausência de um folículo morfologicamente dominante. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 19, n. 3-4, p. 187-192, 1995.
- ALVAREZ, R.H. et al. Resposta ovariana ao tratamento superovulatório com FSH-LH de vacas passivamente imunizadas contra líquido folicular bovino. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 18, n. 3-4, p. 124-130, 1994a.
- ALVAREZ, R.H.; CARVALHO, J.B.P.; CARVALHO, M.I.A.B. Embriões retidos no oviduto como fator de variação na taxa final de recuperação após a lavagem uterina de vacas superovuladas. **Boletim de Indústria Animal**, v. 56, n. 1, p. 89-93, 1999a.
- ALVAREZ, R.H. et al. Gonadotrophin profiles and ovulation rate of mantiqueira cows passively immunized against bovine follicular fluid. **ARS Veterinária**, v. 15, n. 2, p. 95-100, 1999b.
- ALVAREZ, R.H. et al. Endocrine profiles and ovulation rate of cows superovulated with FSH following passive immunisation against steroid free-bovine follicular fluid. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 35, n. 6, p. 266-270, 1998a.
- ALVAREZ, R.H. et al. Effect of charcoal-treated bovine follicular fluid on the secretion of FSH in ovariectomized and intact prepubertal heifers. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 37, n. 5, p. 215-217, 1998b.
- ALVAREZ, R.H.; COELHO, L.A.; MEIRELLES, C.F. Indução da superovulação de vacas nelore passivamente imunizadas contra líquido folicular. **Boletim de Indústria Animal**, v. 55, n. 2, p. 161-166, 1998c.
- ALVAREZ, R.H.; FEITOSA, A. L. Transferência de embriões ovinos em condições de campo. **Boletim de Indústria Animal**, v. 48, n. 1, p. 7-11, 1991.
- ALVAREZ, R.H.; IAPICHINI, J.E.C.B.; PIATTI, R.M. Produção de anticorpos contra líquido folicular de origem zebuina nas espécies *Bos taurus taurus* e *Ovis aries*. **Boletim de Indústria Animal**, v. 54, n. 1, p. 33-38, 1997a.

- ALVAREZ, R.H. et al. Eficácia do tratamento Ovsynch associado à inseminação artificial prefixado em rebanhos *Bos taurus* e *Bos indicus*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 2, p. 317-323, 2003.
- ALVAREZ, R.H.; MASSAT, J. P.; MEIRELLES, C.F. Diagnóstico precoce de gestação em bovinos pela dosagem de progesterona no leite utilizando um teste imunoenzimático (ELISA) a campo. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 13, n. 1, p. 25-32, 1989b.
- ALVAREZ, R. H. et al. The use of lower doses of the prostaglandin analogue, cloprostenol, for oestrus synchronization in heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 25, p. 93-96, 1991b.
- ALVAREZ, R.H. et al. Indução do cio e luteólise em novilhas tratadas com uma mini-dose de cloprostenol administrada pela via intramuscular ou intravulvo-submucosa. **Boletim de Indústria Animal**, v. 46, n. 1, p. 37-44, 1987a.
- ALVAREZ, R.H. et al. Transfer of bovine blastocyst derived from short-term in vitro culture of low quality morulae produced in vivo. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 43, p. 257-260, 2008.
- ALVAREZ, R.H.; NIBART, M. ; THIBIER, M. . Estudo comparativo do congelamento de embriões das espécies bovina (*Bos taurus taurus*) e de camundongo (*Mus musculus*) pelo método em duas etapas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 15, n. 1-2, p. 9-17, 1991c.
- ALVAREZ, R.H.; NOGUEIRA, J.R.; ARAUJO, A.M. Resposta ovariana de fêmeas bubalinas (*Bubalus bubalis*) superovuladas com PMSG ou FSH-P. **Boletim de Indústria Animal**, v. 47, n. 2, p. 111-114, 1990.
- ALVAREZ, R.H. et al. Blood progesterone concentration and ovarian response of mediterranean buffalo cows superovulated with PMSG or HMG. **Buffalo Bulletin**, v. 13, n. 3, p. 64-68, 1994b.
- ALVAREZ, R.H. et al. Effects of inbreeding on ovarian responses and embryo production from superovulated Mantiqueira breed cows. **Theriogenology**, v. 64, n. 8, p. 1669-1676, 2005
- ALVAREZ, R.H.; SILVA, A.A.R.E.; STRASSBURGER, J. Indução da superovulação com FSH-P ou HMG em gado nelore. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 11, n. 4, p. 187-191, 1987b.
- BARBOSA, P.F. **Estratégias de utilização de recursos genéticos em sistemas de produção de bovinos de corte**. 2003. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/BovinoCorte/BovinoCorteRegiaoSudeste/racas.htm>. Acessado em 14/02/2008.
- BARBOSA, C. et al. Distribuição do nascimento de bovinos da raça Nelore submetidos à monta natural o ano todo, na região de Araçatuba(SP). **Boletim de Indústria Animal**, v. 35, n. 1, p.1-15, 1978.
- BARUSELLI, P.S. et al. Lecirelin and busserelin (gonadotrophin releasing hormone agonists) are equally effective for fixed time insemination in buffalo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 38, n. 3, p. 142-145, 2001.
- BARUSELLI, P.S. et al. Inseminação artificial em tempo fixo com sincronização da ovulação em bubalinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 23, p. 360-362, 1999.
- BARUSELLI, P.S. et al. Involução uterina no período pós-parto em fêmeas bubalinas (*Bubalus bubalis*). **Boletim de Indústria Animal**, v. 53, n. único, p. 51-55, 1996.
- BARUSELLI, P.S. et al. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in buffalo (*Bubalus bubalis*). **Theriogenology**, v. 47, n. 8, p. 1531-1547, 1997.
- CARVALHO, J.B.P. et al. Efeito do priming com FSH ou FSH-LH no início do ciclo estral sobre a resposta ovariana de vacas superovuladas. **Boletim de Indústria Animal**, v. 57, n. 2, p. 187-191, 2000.
- CASTRO, T.A.M.G.; MACHADO, C.E.P.; FERRAZ, E.F. Atividade glutamato oxaloacetato transaminase (GOT) em semen de bovinos do tipo Mantiqueira. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, SP, v. 40, n. 2, p. 169-172, 1983.
- CASTRO, T.A.M.G.; MACHADO, C.E.P.; LIEPIN, N.R. Níveis de proteína total e eletroforese das proteínas do plasma seminal de bovinos do ecótipo Mantiqueira. **Boletim de Indústria Animal**, v. 43, n. 1, p. 37-44, 1986a.
- CASTRO, T.A.M.G. et al. Atividades fosfatases ácida e alcalina em sêmen de bovinos do tipo Mantiqueira. **Boletim de Indústria Animal**, v. 43, n. 2, p. 223-230, 1986b.
- COELHO, L.A. et al. Produção in vitro de embriões bovinos. Utilização de diferentes fontes hormonais na maturação dos oócitos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 3, p. 1117-1121, 2002.
- COELHO, L.A. et al. Avaliação da viabilidade de embri-

- ões bovinos produzidos in vitro pela utilização do corante azul tripan. **ARS Veterinária**, v. 14, n. 3, p. 277-284, 1998a.
- COELHO, L.A. et al. Seleção de reprodutores bovinos da raça nelore na produção in vitro de embriões. **Boletim da Indústria Animal**, v. 55, n. 1, p. 31-36, 1998b
- DRUDI, A. et al. Distribuição mensal da natalidade do gado nelore na região noroeste do Estado de São Paulo. **Boletim de Indústria Animal**, v. 33, n. 2, p. 183-189, 1976.
- FERNANDES, C.A.C.; TORRES, C.A.A.; COSTA, E.P. Comparação entre duas doses e vias de aplicação de um produto luteolítico para sincronização do estro em bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 20, n. 2, p. 105-109, 1995.
- FERRAZ, E.F.; GOUVEA, A.C. Estudo comparativo do poder fecundante do sêmen de alguns touros da raça Holandesa malhada de preto. **Boletim de Indústria Animal**, v. 30, n. 2, p. 219-225, 1973.
- FERRAZ, E.F.; PLUT, D.L.; LEITE, O.S. Enzimas glicolíticas em espermatozoides de bovinos da raça holandesa: recomendação de métodos. **Boletim de Indústria Animal**, v. 34, n. 2, p. 231-236, 1977.
- MEIRA, C. et al. Alternative low doses and routes of administering a prostaglandin F₂ analogue to induce luteolysis in Nelore cows. **Journal of Veterinary Science**, v. 7, n. 4, p. 38-390, 2006
- NOGUEIRA, J.R. et al. Aspectos da eficiência reprodutiva de bubalinos das raças Mediterraneo e Jafarabadi. **Boletim de Indústria Animal**, v. 46, n. 1, p. 45-53, 1989.
- PACOLA, L.J.; BOIN, C. Eficiência reprodutiva de novilhas nelores nascidas segundo dois períodos de monta. **Boletim de Indústria Animal**, v. 42, n. 1, p. 79-83, 1985.
- PACOLA, L.J.; NASCIMENTO, J.; REICHERT, R.H. Estação de monta de maio a julho, em vacas zebus: efeito sobre a eficiência reprodutiva. **Boletim de Indústria Animal**, v. 34, n. 2, p. 203-207, 1977.
- PEDREIRA J.V.S. Crônica sobre o Instituto de Zootecnia até os dias atuais. **Zootecnia**, v. único, p. 31-35, 1991.
- PIRES, F.L.; FREITAS, M.A.R.; DUPAS, W. Eficiência reprodutiva das raças Suíça e Guzerá e mestiças suíço-guzerá. **Boletim de Indústria Animal**, v. 34, n. 2, p. 243-246, 1977.
- PIRES, R.M.L. et al. Anomalias cromossômicas no início de desenvolvimento de embriões bovinos produzidos in vitro. **Boletim de Indústria Animal**, v. 62, n. 2, p. 135-140, 2005
- PIRES, R.M.L. et al. Implicação reprodutiva do mosaicismo 59,X0/60, XX/61, XXX em bovinos. **Boletim de Indústria Animal**, v. 56 n. 1, p. 85-88, 1999.
- PIRES, R.M.L. et al. Translocação robertsoniana 1/29 e quimerismo em bovinos da raça Suíça Parda. **Boletim de Indústria Animal**, v. 42, n. 1, p. 107-113, 1985.
- PIRES, R.M.L. et al. Estudos citogenéticos em bovinos do tipo tropical leiteiro e ecótipo Mantiqueira. **Boletim de Indústria Animal**, v. 51 n. 2, p. 165-168, 1994.
- PLUT, D.L.; GOUVEA, A.C.; CAMPOS, B.E.S. Determinação da concentração de espermatozoides em sêmen bovino pelo método espectrofotométrico. **Boletim de Indústria Animal**, v. 30, n. 2, p. 227-236, 1973.
- PRUCOLI, J.O.; BACCARI Jr. F. Estudos sobre estação de monta em ovinos no Estado de São Paulo. **Boletim de Indústria Animal**, v. 24, n.único, p. 75-88, 1967.
- RODA, D.S.; OTTO, P.A. Efeito da suplementação alimentar pré-acasalamento na prolificidade de ovinos das raças Ideal e Corriedale. **Boletim de Indústria Animal**, v. 47, n.2, p. 87-96, 1990.
- RODA, D.S. et al. Desempenho de ovinos em sistema de acasalamento a cada oito meses. **Boletim de Indústria Animal**, v. 50, n. 1, p. 49-54, 1993.
- RONCOLETTA, M. et al. Perfil em SDS-PAGE das proteínas do plasma seminal e sua relação com a congelabilidade do sêmen de touros doadores da raça gir. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 36, n. 2, p. 00-00, 1999.
- SANTIAGO, A.S.; JORDÃO, L.P.J.; TÚLIO, M.C. Número especial dedicado ao histórico do Departamento da Produção Anima, transformado em Instituto de Zootecnia. **Zootecnia**, v. 8, n. 1, p. 3-93, 1970.
- SANTIAGO, M. et al. Bovinos da raça Canchim submetidos a dois períodos de monta: estudo comparativo das taxas de fertilidade e desmama. **Boletim de Indústria Animal**, v. 40, n. 2, p. 189-193, 1983.
- SILVEIRA, W.F. et al. Modificação no aparelho de Van Rensburg e Vos para eletroejaculação em bovinos. **Boletim de Indústria Animal**, v. 35, n. 1, p. 57-68, 1978.
- SIQUEIRA, A.C.M.F. et al. Efeitos do sexo do produto, idade da vaca e da estação do ano sobre a duração do

período de gestação de vacas da raça Holandesa, variedade malhada de preto. **Boletim de Indústria Animal**, v. 32, n. 1, p. 47-56, 1975

TEDESCHI, L.O. et al. Efeito da suplementação durante o período de seca ou o ano todo na performance reprodutiva e no peso corporal de fêmeas Guzerá e seus cruzamentos

pastejando capim colônia. **Boletim de Indústria Animal**, v. 59, n. 2, p. 185-195, 2002.

TUNDISI, A.G.A.; PACOLA, L.J.; LIMA, F.P. Estudo do desempenho reprodutivo de vacas zebuínas sujeitas a estação de monta limitada para três meses. **Boletim de Indústria Animal**, v. 31, n. 1, p. 31-38, 1974.