

RESSALVA

Atendendo solicitação do autor ,
o texto completo desta dissertação
será disponibilizado somente a partir
de 03/07/2020.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

EFEITO DA SEXAGEM DO SÊMEN NA FERTILIDADE A IATF E
NA PRODUTIVIDADE DAS FILHAS

ANDERSON KLOSTER MUNHOZ

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia como parte das
exigências para obtenção do
título de Mestre.

Botucatu – SP

Julho - 2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

EFEITO DA SEXAGEM DO SÊMEN NA FERTILIDADE A IATF E
NA PRODUTIVIDADE DAS FILHAS

ANDERSON KLOSTER MUNHOZ
Médico Veterinário

Orientador: Prof. Dr. José Luiz Moraes Vasconcelos

Trabalho de apresentação ao
Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia como parte das
exigências para obtenção do
título de Mestre.

Botucatu – SP

Julho - 2019

M966e Munhoz, Anderson Kloster
Efeito da sexagem do sêmen na fertilidade a IATF
e na produtividade das filhas / Anderson Kloster
Munhoz. -- Botucatu, 2019
43 f. : tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual
Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina Veterinária
e Zootecnia, Botucatu
Orientador: José Luiz Moraes Vasconcelos

1. Fertilidade. 2. Sincronização. 3. Sexagem. I.
Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp.
Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu.
Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

BIOGRAFIA DO AUTOR

Anderson Kloster Munhoz, nascido no município de Natal – RN, em 26 de Setembro de 1989, filho de Nelson Munhoz e Rosilda Aparecida Kloster Munhoz. No ano de 2007 iniciou seus estudos no curso de Medicina Veterinária na Universidade Federal de Uberlândia (UFU), durante a graduação focou seus estudos e estágio na área de produção e reprodução de bovinos.

No ano de 2012 mudou-se para Agropecuária Fazenda Brasil, Nova Xavantina - MT para realizar estágio de conclusão de curso, retornou para Uberlândia para finalizar a graduação e se mudou para o estado do Mato Grosso trabalhar na mesma empresa, com reprodução de gado de corte, mas agora na cidade de Canabrava do Norte - MT. No ano de 2014 mudou-se para Carmo do Rio Claro - MG onde participou de pesquisas na área de desenvolvimento de programas de sincronização do ciclo estral (IATF) em vacas de leite, sob orientação do Prof. Dr. José Luiz Moraes Vasconcelos. Em meados de 2014, mudou-se para Campinas - SP para desenvolver seu projeto de mestrado na fazenda Atibainha em gado de leite. Em 2015 mudou-se para Botucatu - SP e seguiu participando de projetos de pesquisa em gado de leite e corte junto ao professor Zequinha.

Em 2017 ingressou no programa de mestrado em zootecnia pela FMVZ-UNESP/Botucatu-SP, no departamento de pós graduação em produção animal sob a orientação do Prof. Dr. José Luiz Moraes Vasconcelos. Durante o mestrado desenvolveu trabalhos na área de fertilidade de vacas de corte e leite, tendo como trabalho para apresentação e obtenção do título de mestre intitulado como: Efeito da sexagem do sêmen na fertilidade a IATF e produtividade das filhas.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre estar presente em minha vida, me guiando e protegendo em toda caminhada.

Ao meu pai Nelson Munhoz, minha mãe Rosilda Kloster e minha irmã Susi, como exemplo de humildade e dedicação, que nunca mediram esforços para que me dedicasse aos estudos e crescimento profissional, apoiando em toda decisão tomada. A toda minha família que sempre acreditou em meus sonhos.

Ao amigo e orientador Prof. Dr. José Luiz Moraes Vasconcelos pelas cobranças, puxões de orelha, convívio diário, conselhos e exemplo para meu crescimento pessoal e profissional.

Aos amigos Dr. Leandro Cruppe e Dr. Marcos Henrique Colombo Pereira por participarem da banca do Exame Geral de Qualificação e da Defesa de Dissertação, pelas sugestões e críticas que contribuíram para melhorar a dissertação além de conselhos para crescimento pessoal e profissional.

A Fazenda Atibainha em nome de Renato, Renata e André Rappa por permitir a realização do experimento.

Aos funcionários da Fazenda Atibainha, que foram essenciais para realização desse experimento, sempre me ajudando e se disponibilizando para colaborar com estudo. Em especial quero agradecer aos grandes amigos Flavio e Zé Maria.

Aos companheiros de pós-graduação, professores e estagiários por todo convívio, ensinamentos, companheirismo e pelos momentos de distração nesse período de mestrado: Eraldo Drago, João Pedro, Wedson Costa, Tiago Leiva, Tiago Guzela, Carlos Sanches, Marcos Pereira, Isabela Marconato, Ana Paula, João Paulo, Rafael Carvalho, Rogério Peres.

A minha namorada Camila Prado (Mobilete) pelo amor, paciência, dedicação e ajuda.

A todos que participam ou participaram dos serviços prestados pelo clube da IATF.

À todos os amigos de Uberlândia - MG, que apesar da distância sempre se mostraram presentes em minha vida e de minha família, convivendo e acompanhando meu pai e minha mãe, além de me proporcionarem excelentes momentos em minha cidade. Em especial Ícaro Lemes, Orlandino Jr, Gustavo Calixto, Marcio Paulo, Pedro Urias, Guilherme Gordão, Lucas Muleta, Marcos Muller, Pedro Artur, Fernando Catraca, Celso Jr, João Paulo, Douglas e Túlio Cunha.

À Republica Boi na Zona, pela amizade e companheirismo. Em especial ao Alce, Italiano, Chicuta, Leitoa, Kiçassa, Mexicano, Rodrigo, Tin-Tin, Barbela, Minero, Xanfro, Anzor, Frangão, Mateuzão, Pialo, Sanhaço, Cobre, Curtão, Cuspe e Xucro. Obrigado meus amigos!

Ao pessoal da UNESP, por todo período de convívio, amizade e companheirismo: em especial todos os amigos da CONAPEC Jr.

Aos funcionários da sessão de pós-graduação da UNESP – Botucatu: Cláudia e Ellen; departamento de produção Animal: Renato, pela disposição e prontidão para ajudar.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq), pela bolsa fornecida.

A todos meus amigos e companheiros que de alguma maneira participaram desta caminhada.

MUITO OBRIGADO A TODOS!

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	ii
SUMÁRIO DE TABELAS.....	iii
SUMÁRIO DE FIGURAS.....	iv
CAPÍTULO 1	1
1. INTRODUÇÃO	2
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Fertilidade da vaca na IATF.....	3
2.2. Descarte voluntário e involuntário.....	6
2.3. Sêmen sexado.....	7
2.3.1 Processo de sexagem.....	7
2.3.2 Processo de Criopreservação.....	8
2.3.3 Fertilidade do sêmen sexado.....	8
2.4 Fertilidade de touros.....	11
2.5 Efeitos epigenéticos.....	11
3. Referências Bibliográficas	13
CAPÍTULO 2	23
Resumo.....	24
Abstract.....	25
1. Introdução.....	26
2. Objetivos.....	26
3. Hipóteses	27
4. Material e Métodos.....	27
4.1. Instalações, Animais e Dieta.....	27
4.2. Manejo Reprodutivo.....	28
4.3. Avaliação do escore de condição corporal (ECC).....	29
4.4. Avaliação de estruturas ovarianas.....	29
4.5. Detecção de estro.....	29
4.6. Sêmen.....	29
4.7. Temperatura retal.....	29
4.8. Produção de leite das matrizes.....	29
4.9. Diagnóstico de gestação.....	30
4.10. Gestação, taxa de nascimento e sexo da cria.....	30
4.11. Avaliação de crescimento e produtividade da progênie proveniente de sêmen convencional ou sexado.....	30
4.12. Análise estatística.....	30
Resultados e discussão.....	31
5. Conclusões.....	39
6. Referências Bibliográficas.....	40

LISTA DE ABREVIATURAS

BE – Benzoato de Estradiol

CEUA- Comissão de Ética no Uso de Animais

CIDR – Dispositivo intravaginal de progesterona

CL – Corpo Lúteo

DEL – Dias em lactação

DG – Diagnóstico de gestação

DNA - ácido desoxirribonucleico

E2 – Estradiol

ECC – Escore de condição corporal

ECP – Cipionato de estradiol

FIV – Fertilização *in vitro*

FMVZ – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

GnRH – Hormônio Liberador de Gonadotrofina

IA – Inseminação artificial

IATF – Inseminação artificial em tempo fixo

Mg – miligrama

P4 – Progesterona

P/IA – Prenhez por IA

PGF2 α – Prostaglandina

TE – Transferência de Embrião

TETF – Transferência de embrião em tempo fixo

UNESP- Universidade Estadual Paulista

US – Ultrassom

UV – Ultravioleta

SUMÁRIO DE TABELAS

Tabela 1. Médias de produção de leite, ECC, DEL, número de inseminações, lactações entre os tratamentos

Tabela 2. Taxa de prenhez geral aos 31 e 59 dias e perdas de gestação de acordo com sêmen

Tabela 3. Taxa de prenhez aos 30 e 59 dias e perdas de gestação de acordo com categoria (número de lactações)

Tabela 4. Taxa de prenhez por sêmen aos 31 e 59 dias e perdas de gestação de acordo com ECC

Tabela 5. Taxa de prenhez por sêmen aos 31 e 59 dias e perdas de gestação de acordo com a temperatura retal no momento da inseminação artificial

Tabela 6. Taxa de prenhez aos 30 dias por touro

Tabela 7 - Porcentagem de partos, bezerras fêmeas nascidas e viáveis entre sêmen convencional e sexado

Tabela 8 - Características da progênie descendente de sêmen sexado ou convencional

Tabela 9 – Produção de leite da progênie descendente de sêmen convencional ou convencional

SUMÁRIO DE FIGURAS

Figura 1. Descrição do delineamento experimental

1. INTRODUÇÃO

De acordo com a Associação Brasileira de Inseminação Artificial (ASBIA), (2017), a técnica de Inseminação Artificial (IA) em Bovinos é utilizada em 6,23% das fêmeas leiteiras e 11,7% em fêmeas de corte no Brasil, com grande potencial de crescimento nos próximos anos em decorrência do uso da Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF). Verificou-se crescimento de 16,1% no mercado de IATF em relação ao ano anterior (2017 vs 2018). Em 2017 foram comercializados 11.416.196 protocolos de IATF, comparados aos 13.259.690 protocolos comercializados em 2018. Esses dados são indicativos de que 86% das inseminações no Brasil foram realizadas por IATF, demonstrando a consolidação dessa tecnologia no mercado de inseminação artificial (BARUSELLI et al., 2019), considerada eficiente e fundamental para difundir o melhoramento genético no rebanho e aumentar a eficiência reprodutiva, visto que elimina a necessidade de detecção de cio e aumenta a taxa de serviço.

Apesar do aumento da utilização da IATF nos últimos anos, ainda é pequeno o número de animais submetidos a inseminação quando comparado ao total de fêmeas em idade reprodutiva do rebanho brasileiro. Em contrapartida, os produtores adeptos a essas biotecnologias da reprodução, têm intensificado o seu uso buscando alternativas para melhorar seus índices produtivos. Nos sistemas de produção da pecuária de corte e leite, o sexo dos bezerros nascidos é um fator de grande importância para o desempenho econômico, por exemplo, quando ocorre o nascimento de uma cria do sexo masculino na pecuária de leite, verifica-se uma redução na lucratividade, podendo aumentar os custos de produção (HOSSEPIAN DE LIMA, 2006; BARUSELLI et al, 2007). Nos últimos anos, estudos foram realizados com objetivo de otimizar resultados, produzir bezerros de determinado sexo de acordo com o sistema de produção; e como ferramenta para buscar estes resultados estão sendo realizadas pesquisas voltadas a utilização de sêmen sexado. O interesse por sêmen sexado tem aumentado, porém, ao mesmo tempo que existem muitas oportunidades, seu uso ainda apresenta desafios quanto aos custos e eficiência.

O processo de sexagem de sêmen é uma tecnologia importante para o setor de produtos lácteos, pois cria maior oferta de novilhas de reposição e acelera o ganho genético (DE VRIES et al., 2008, CHEBEL et al., 2010), possibilitando um crescimento de rebanho e aumento do descarte voluntário. Portanto, entender melhor sobre a utilização do sêmen sexado como uma ferramenta para aumentar a taxa de nascimento de fêmeas, possibilitando uma reposição adequada e crescimento do rebanho foi o principal objetivo desse projeto. Além disso, buscou-se entender quais fatores ou variáveis podem interferir na fertilidade do sêmen convencional vs. sexado.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 FERTILIDADE DA VACA NA IATF

Nos últimos anos, muitos estudos foram reportados levando em consideração a base fisiológica e o uso prático da IATF para o manejo reprodutivo de gado leiteiro (BARUSELLI et al., 2012; BINELLI et al., 2014; WILTBANK e PURSLEY, 2014), recentemente reunidos em revisão por Vasconcelos et. al, (2018) demonstrando pontos críticos para o desenvolvimento dos programas que estão em uso atual para a IATF em gado leiteiro no Brasil, onde basicamente 4 processos fisiológicos essenciais para o sucesso da sincronização da ovulação e momento de inseminação são citados, sendo esses: 1 - sincronização da emergência de nova onda folicular, 2 - otimização do ambiente para desenvolvimento folicular e seleção de folículo dominante, 3 - indução de completa regressão do CL com baixa circulação de P4 próximo a inseminação e 4 - sincronização da ovulação combinado com adequado programa de IATF (PEREIRA et al., 2013a;2013b; 2014; 2015; 2016; 2017a; 2017b).

1. Sincronização da emergência de nova onda folicular

Entender as ondas foliculares foi essencial para o desenvolvimento inicial dos protocolos de IATF e sua melhora subsequente (THATCHER AND SANTOS, 2007;

nascimentos originados de sêmen sexado apresentaram-se aparentemente normal fenotipicamente (SEIDEL, 1999b, c; CRAN, 2000). Djedović et al., (2016) avaliaram o efeito do tipo de semen (sexado e convencional) e obtiveram redução na taxa de concepção ($p < 0,001$), peso ao nascimento ($p < 0,001$), viabilidade das bezerras 48 horas após nascimento ($p < 0,001$), e aumento na taxa de natimortos ($p < 0,01$).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL (ASBIA) - Index ASBIA – 2017.

ANDERSSON M, TAPONEN J, KOMMERI M, DAHLBOM M, 2006: Pregnancy rates in lactating Holstein-Friesian cows after artificial insemination with sexed sperm. **Reproduction Domestic Animal**, 41, 95-97.

BARUSELLI PS, SOUZA AH, MARTINS CM, GIMENES LU, SALES JNS, AYRES H, ARRUDA RP. Sêmen sexado: inseminação artificial e transferência de embriões. *Revista Brasileira Reprodução Animal*, 31:374-381, 2007.

BARUSELLI, P. S.; SÁ FILHO, M.F. ; FERREIRA, R.M. ; SALES, J.N.S. ; GIMENES, LINDSAY UNNO ; VIEIRA, L.M. ; MENDANHA, M.F. ; BÓ, GABRIEL A . Manipulation of follicle development to ensure optimal oocyte quality and conception rates in cattle. **Reproduction in Domestic Animals** (1990), v. 47, p. 134-141, 2012.

BARUSELLI, P.S. Avaliação do mercado de IATF no Brasil. Boletim Eletrônico do Departamento de Reprodução Animal/FMVZ/USP, 1. ed., 2019. Acesso < <http://vra.fmvz.usp.br/boletim-eletronico-vra/>>

BINELLI M, SARTORI R, VASCONCELOS JLM, MONTEIRO JR PLJ, PEREIRA MHC, RAMOS RS. 2014. Evolution in fixed-time: from synchronization of ovulation to improved fertility. In: **2014 Proceedings 9th International Ruminant Reproduction Symposium**, Obihiro City, Hokkaido, Japan. Burton-On-Trent, UK: Context. pp. 493-506.

BISINOTTO RS, RIBEIRO ES, MARTINS LT, MARSOLA RS, GRECO LF, FAVORETO MG, RISCO CA, THATCHER WW, SANTOS JEP. 2010. Effect of interval between induction of ovulation and artificial insemination (AI) and supplemental progesterone for resynchronization on fertility of dairy cows subjected to a 5-d timed AI program. **Journal of Dairy Science**, 93:5798-5808.

BLONDIN P, BEALIEUM M, FOURNIER V, MORIN N, CRAWFORD L, MADAN P, KING WA. Analysis of bovine sexed sperm for IVF from sorting to the embryo. **Theriogenology**, v.71, p.30-38, 2009.

BODMER M, JANETT F, HASSIG M, DEN DAAS N, REICHERT P, THUN R. Fertility in heifers and cows after low dose insemination with sex-sorted and non-sorted sperm under field conditions. **Theriogenology**, 64:1647-1655, 2005.

BORCHENSEN, S AND PEACOCK, M. 2009. Danish A.I. field data with sexed sêmen. **Theriogenology**, v.71, p.59-63.

BRUSVEEN DJ, SOUZA AH, WILTBANK MC. 2009. Effects of additional prostaglandin F₂ α and estradiol-17 β during Ovsynch in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, 92:1412-1422.

CARVALHO, J. O., R. SARTORI, G. M. MACHADO, G. B. MOURAO, AND M. A. N. DODE. 2010. Quality assessment of bovine cryopreserved sperm after sexing by flow cytometry and their use in in vitro embryo production. **Theriogenology**, v. 74:1521–1530.

CERRI RLA, SANTOS JEP, JUCHEM SO, GALVAO KN, CHEBEL RC. 2004. Timed artificial insemination with estradiol cypionate or insemination at estrus in highproducing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, 87:3704-3715.

CERRI RLA, RUTIGLIANO HM, CHEBEL RC, SANTOS JEP. 2009. Period of dominance of the ovulatory follicle influences embryo quality in lactating dairy cows. **Reproduction**, 137:813-823.

CRAN, D. G.; JOHNSON, L. A.; POLGE, C. Sex preselection in cattle: a field trial. **The Veterinary Record**, London, v. 136, n. 19, p. 495-6, 1995.

CHEBEL, R.C., GUAGNINI, F.S., SANTOS, J.E.P., FETROW, J.P., LIMA, J.R., 2010. Sex-sorted sêmen for dairy heifers: effects on reproductive and lactational performances. **Journal of Dairy Science**, 93, 2496-2507.

DE VRIES, A., M. OVERTON, J. FETROW, K. LESLIE, S. EICKER, AND G. ROGERS. 2008. Exploring the impact of sexed semen on the structure of the dairy industry. **Journal of Dairy Science**, 91:847–856.

DEJARNETTE, J. M., R. L. NEBEL, C. E. MARSHALL, J. F. MORENO, C. R. MCCLEARY, AND R. W. LENZ. 2008. Effect of sex-sorted sperm dosage on conception rates in Holstein heifers and lactating cows. **Journal of Dairy Science**. 91:1778–1785.

DEJARNETTE, J.M., LEACH, M.A., NEBEL, R.L, MARSHALL, C.E., MCCLEARY, C.R., MORENO, J.F., 2011. Effects of sex-sorting and sperm dosage on conception rates of Holstein heifers: is comparable fertility of sex-sorted and conventional semen plausible? **Journal Dairy Science**, 94, 3477-3483.

DEJARNETTE, J.M., MCCLEARY, C.R., LEACH, M.A., MORENO, J.F., NEBEL, R.L., MARSHALL, C.E., 2010. Effects of 2.1 and 3.5 x 10⁶ sex-sorted sperm dosages on conception rates of Holstein cows and heifers. **Journal Dairy Science**, 93, 4079-4085.

DEJARNETTE, J. M., NEBEL.R. L. AND MARSHALL. C. E. 2009. Evaluating the success of sex-sorted semen in US dairy herds from on farm records. **Theriogenology**, 71:49–58.

DJEDOVIĆ. R., BOGDANOVIĆ. V.; STANOJEVIĆ. D.; NEMES. Z.; GÁSPÁRDY. A.; CSEH. S. Involuntary reduction in vigour of calves born from sexed sêmen. **Acta Veterinaria Hungarica**. 64 (2), pp. 229–238 (2016).

EMMENS, C. W. Insemination pH and the sex ratio in rabbits. **Journal Herald**, v. 51. P.156-157, 1960.

FRIJTERS ACJ, MULLAART E, ROELOFS RMG, VAN HOORNE RP, MORENO JF, MORENO O, MERTON JS, 2009: What affects fertility of sexed bull semen more, low sperm dosage or the sorting process? **Theriogenology**, 71, 64–67.

GARCIA, E. M.; VÁSQUEZ, J.M.; PARRILLA, I.; CALVETE, J. J.; SANZ, L.; CABALLERO, I.; ROCA, J.; VASQUEZ, J. L.; MARTÍNEZ, E. A. Improving the fertilizing ability of sex sorted boar spermatozoa. **Theriogenology**, v.68, p.771-778, 2007.

GARNER DL (2001) Sex-sorting mammalian sperm: concept to application in animals. **Journal of Andrology** 22:519–526

GARNER, D. L., AND G. E. SEIDEL JR. 2008. History of commercializing sexed semen for cattle. **Theriogenology**, 69:886–895.

GARNER DL. Flow cytometric sexing of mammalian sperm. **Theriogenology**, v.65, p.943-957, 2006.

GARNER, D.L.; SEIDEL, JR, G. E. Past, Present and future perspectives on sexing sperm. **Canadian Journal of Animal Science**, v.83, p. 375-384, 2003.

GRAAF, S. P.; EVANS, G.; GILLAN, L.; GUERRA, M. M. P.; MAXWELL, W. M. C.; O'BRIEN, J. K. The influence of antioxidant, cholesterol and seminal plasma on the in vitro quality of sorted and non-sorted ram spermatozoa. **Theriogenology**, v. 67, p. 217-227, 2007.

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

HOSSEPIAN DE LIMA, V.F.M. Controle de qualidade na seleção de espermatozoides de bovinos por centrifugação em gradientes descontínuos de densidade de sílica coloidal modificada (Percoll®) e iodixanol (Optiprep TM). 2005, 214f. **Tese (Livre-docência) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.**

JOHNSON LA AND WELCH GR (1999) Sex preselection: high-speed flow cytometric sorting of X and Y sperm for maximum efficiency **Theriogenology**, v.52, p.1323–1341.

JOHNSON LA, FLOOK JP AND HAWK HW (1989) Sex preselection in rabbits: live births from X and Y sperm separated by DNA and cell sorting. **Biology of Reproduction**, v.41, p.199–203.

JOHNSON LA, FLOOK JR AND LOOK MV (1987) Flow cytometry of X and Y chromosome-bearing sperm for DNA using an improved preparation method and staining with Hoechst 33342. **Gamete Research**, v.17, 203–212

JOHNSON LA, WELCH GR AND GARNER DL (1994) Improved flow sorting resolution of X- and Y-chromosome bearing viable sperm separation using dual staining and dead cell sorting Cytometry **17 Supplement 7** (Abstract 83) 28.

KANEKO S, OSHIRO S, KOBAYASHI T, ITZUKA R AND MOHRI H (1984) Human X- and Y-bearing sperm differ in cell surface sialic acid content. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.124, 950–955.

KOO, G.C.; STACKPOLE, C.W.; BOYSE, E.A.; HÄMMERLING, U. Topographical, localization of the H-Y antigen on mouse spermatozoa by immunoelectron microscopy. **Production National Academy Science**. New York, v. 70, p. 1502-1505, 1973.

KURYKIN J, JAAKMA U, JALAKAS M, AIDNIK M, WALDMANN A, MAJAS L. Pregnancy percentage following deposition of sex-sorted sperm at different sites within the uterus in estrus-synchronized heifers. **Theriogenology**, 67:754-759, 2007.

LEMOS, A.M.; TEODORO, R.L.; MADALENA, F.E. Comparative performance of six Holstein-Friesian X Guzerá grades in Brazil. Stayability, herd life and reasons for disposal. **Brazilian Journal of Genetics**, v.19, n.2, p.259-264, 1996.

MARTINS JPN, POLICELLI RK, NEUDER LM, RAPHAEL W, PURSLEY JR. 2011. Effects of cloprostenol sodium at final prostaglandin F_{2α} of Ovsynch on complete luteolysis and pregnancy per artificial insemination in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, 94:2815-2824.

MELO LF, MONTEIRO PLJ, SURJUS RS, DRUM JN, WILTBANK MC, SARTORI R. 2016. Progesterone-based fixed-time artificial insemination protocols for dairy cows: gonadotropin-releasing hormone versus estradiol benzoate at initiation and estradiol cypionate versus estradiol benzoate at the end. **Journal of Dairy Science**, 99:92279237.

MENEGHETTI M, SA FILHO OG, PERES RF, LAMB GC, VASCONCELOS JL. 2009. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus*

cows I: basis for development of protocols. **Theriogenology**, 72:179-189.

MAXWELL, W.M.C., EVANS, G., HOLLINSHEAD, F.K., BATHGATE, R., DE GRAAF, S.P., ERIKSSON, B.M., GILLAN, L., MORTON, K.M., O'BRIEN, J.K., 2004. Integration of sperm sexing technology into the ART toolbox. **Animal Reproduction Science**, 82-83, 79-95.

MOCÉ E, GRAHAM JK, SCHENK JL. Effect of sex- sorting on the ability of fresh and 495 cryopreserved bull sperm to undergo an acrosome reaction. **Theriogenology** 2006; 66: 496 929-936.

MORRIS, L. H. A.; HOLLINSHEAD, F. K.; EVANS, G.; MAXWELL, W. M. C. The longevity and acrosome status of stallion flow-sorted spermatozoa. **Theriogenology**, v. 59, p.512, 2003. Abstract.

PEREIRA, M.H.C.; RODRIGUES, A.D.P. ; MARTINS, T. ; OLIVEIRA, W.V.C. ; SILVEIRA, P.S.A. ; WILTBANK, M.C. ; VASCONCELOS, J.L.M. . Timed artificial insemination programs during the summer in lactating dairy cows: Comparison of the 5-d Cosynch protocol with an estrogen/progesterone-based protocol. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 6904, 2013a.

PEREIRA, M.H.C.; SANCHES, C.P.; GUIDA, T.G. ; RODRIGUES, A.D.P. ; ARAGON, F.L. ; VERAS, M.B. ; BORGES, P.T. ; WILTBANK, M.C. ; VASCONCELOS, J.L.M. . Timing of prostaglandin F₂ α treatment in an estrogen-based protocol for timed artificial insemination or timed embryo transfer in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 2837-2846, 2013b.

PEREIRA, M.H.C.; RODRIGUES, A.D.P. ; DE CARVALHO, R.J. ; WILTBANK, M.C. ; VASCONCELOS, J.L.M. . Increasing length of an estradiol and progesterone timed artificial insemination protocol decreases pregnancy losses in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 97, p. 1454-1464, 2014.

PEREIRA, M.H.C.; WILTBANK, M.C. ; BARBOSA, L.F.S.P. ; COSTA, W.M. ; CARVALHO, M.A.P. ; VASCONCELOS, J.L.M. . Effect of adding a gonadotropin-releasing-hormone treatment at the beginning and a second prostaglandin F₂ α treatment at the end of an estradiol-based protocol for timed artificial insemination in

lactating dairy cows during cool or hot seasons of the year. **Journal of Dairy Science**, v. 98, p. 947-959, 2015.

PEREIRA, M.H.C.; WILTBANK, M.C.; VASCONCELOS, J.L.M. . Expression of estrus improves fertility and decreases pregnancy losses in lactating dairy cows that receive artificial insemination or embryo transfer. **Journal of Dairy Science**, v. 99, p. 2237, 2016.

PEREIRA, M.H.C.; SANCHES, C.P. ; GUIDA, T.G. ; WILTBANK, M.C. ; VASCONCELOS, J.L.M. . Comparison of fertility following use of one versus two intravaginal progesterone inserts in dairy cows without a CL during a synchronization protocol before timed AI or timed embryo transfer. **Theriogenology**, v. 89, p. 72-78, 2017a.

PEREIRA, M.H.C.; WILTBANK, M.C. ; GUIDA, T.G. ; LOPES, F.R. ; VASCONCELOS, J.L.M. . Comparison of 2 protocols to increase circulating progesterone concentration before timed artificial insemination in lactating dairy cows with or without elevated body temperature. **Journal of Dairy Science**, v. 100, p. 8455-8470, 2017b.

PERES RF, CLARO I JR, SA FILHO OG, NOGUEIRA GP, VASCONCELOS JLM. 2009. Strategies to improve fertility in *Bos indicus* postpubertal heifers and nonlactating cows submitted to fixed-time artificial insemination. **Theriogenology**, 72:681-689.

QUEIROZ, S.A.; McALLISTER, A.J. Avaliação do tipo de descarte de vacas sobre a rentabilidade de rebanhos leiteiros no Estado do Kentucky. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 33., 1996, Fortaleza. **Anais... Fortaleza: Sociedade Brasileira de Zootecnia**, 1996. v.1, p. 467-469.

RATH, D., BARCIKOWSKI, S., DE GRAAF, S., GARRELS, W., GROSSFELD, R., KLEIN, S., KNABE, W., KNORR, C., KUES, W., MEYER, H., MICHL, J., MOENCH-TEGEDER, G., REHBOCK, C., TAYLOR, U., WASHAUSEN, S., 2013. Sex selection of sperm in farm animals: status report and developmental prospects. **Reproduction**, 145, R15-R30.

ROGERS, G.W.; HARGROVE, G.L.; COOPER, J.B. et al. Management and genetic

influences on survival in Jerseys. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.279-285, 1991.

SÁ FILHO M.F, GIROTTTO R, ABE EK, PENTEADO L, CAMPOS FILHO EP, MORENO JF ET AL. Optimizing the use of sex-sorted sperm in timed artificial insemination programs for suckled beef cows. **Journal Animal Science** 2012; 90:1816–23.

SALES, J.N.S. ; NEVES, K.A.L., SOUZA, A.H.; CREPALDI, G.A.; SALA, R.V.; FOSADO, M., FILHO, E.P.C., DE FARIA, M., FILHO, M.F.S., BARUSELLI, P.S., 2011. Timing of insemination and fertility in dairy and beef cattle receiving timed artificial insemination using sex-sorted sperm. **Theriogenology**, v. 76, p. 427-435, 2011.

SANTOS JEP, DEPETERS EJ, JARDON PW, HUBER JT. 2001. Effect of prepartum dietary protein level on performance of primigravid and multiparous Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, 84:213-224.

SANTOS JEP, BISINOTTO RS, RIBEIRO ES, LIMA FS, GRECO LF, STAPLES CR, THATCHER WW. 2010a. Applying nutrition and physiology to improve reproduction in dairy cattle. **Soc Reprod Fertil Suppl**, 67:387-403.

SCHENK, J. L., D. G. CRAN, R. W. EVERETT, AND G. E. SEIDEL JR, 2009. Pregnancy rates in heifers and cows with cryopreserved sexed sperm: Effects of sperm numbers per inseminate, sorting pressure and sperm storage before sorting. **Theriogenology**, 71:717–728.

SCHENK, J.L.; SUH, T.K.; SEIDEL JR, G.E. Cryopreservation of flow-sorted bovine spermatozoa. *Theriogenology*, Stonehan, v. 52, p. 1375-11391, 1999.

SEIDEL JR GE. 2003. Economics of selecting of sex: the most important genetic trait. **Theriogenology**, v.59, p.585-598.

SEIDEL, G. E. JR., AND J. L. SCHENK. 2008. Pregnancy rates in cattle with cryopreserved sexed sperm: Effects of sperm numbers per inseminate and site of sperm deposition. **Animal Reproduction Science**, 105:129–138.

SEIDEL, G. E. JR., J. L. SCHENK, L. A. HERICKHOFF, S. P. DOYLE, Z. BRINK, R. D. GREEN, AND D. G. CRAN. 1999. Insemination of heifers with sexed sperm. **Theriogenology**, 52:1407–1420.

SERAFIM, PR; GOMES, GM; GOMES, LPM; BORN, JLB; BORGES, MS; CRESPILO, AM. Sêmen bovino sexado: A produção in vitro de embriões pode ser influenciada pelo touro doador do material genético?. **Revista de Saúde**. 2018 Jan./Jun.; 09 (1): 04-08.

SHARPE, J.C.; EVANS, K.M. Advances in flow cytometry for sperm sexing. **Theriogenology**, v. 71, p. 4–10, 2009.

SHETTLES, L.B. Nuclear structure of human spermatozoa. **Nature**, London, v.188, p. 918-919, 1960.

SIQUEIRA, L. G. B.; DIKMEN. S.; ORTEGA. M. S.; HANSEN. P. J. Postnatal phenotype of dairy cows is altered by in vitro embryo production using reverse X-sorted semen. **Journal of Dairy Science**.Vol. 100 No. 7, 2017.

SOUZA AH, VIECHNIESKI S, LIMA FA, SILVA FF, ARAUJO R, BO GA, WILTBANK MC, BARUSELLI PS. 2009. Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses in dairy cows. **Theriogenology**, 72:10-21

TAVALAEE, M.; RAZAVI, S.; NASR-ESFAHANI, M.H. Influence of sperm chromatin anomalies on assisted reproductive technology outcome. **Fertility and Sterility**, New York, v.91, p. 1119-1126, 2009.

THATCHER WW, SANTOS JE. 2007. Control of ovarian follicular and corpus luteum development for the synchronization of ovulation in cattle. **Soc Reprod Fertil Suppl**, 64:69-81.

UNDERWOOD, S.L., BATHGATE, R., MAXWELL, W.M.C., EVANS, G., 2009. Development of procedures for sex-sorting frozen-thawed bovine spermatozoa. **Reproduction Domestic Animal**, 44, 460-466.

UNDERWOOD, S.L., BATHGATE, R., MAXWELL, W.M.C., EVANS, G., 2010. Birth fo offspring after artificial insemination of heifers with frozen-thawed, sex-sorted, re-frozen-thawed bull sperm. **Animal Reproduction Science**, 118, 171-175.

VALCARCE, D.G.; CARTÓN-GARCÍA, F.; RIESCO, M.F; HERRÁEZ, M.P.; ROBLES, V. Analysis of DNA damage after human sperm cryopreservation in genes

crucial for fertilization and early embryo development. **Andrology**, v. 1, p. 723-730, 2013.

VASCONCELOS JLM, JARDINA DTG, SÁ FILHO OG, ARAGON FL, VERAS MB. 2011b. Comparison of progesterone-based protocols with gonadotropinreleasing hormone or estradiol benzoate for timed artificial insemination or embryo transfer in lactating dairy cows. **Theriogenology**, 75:1153-1160.

VASCONCELOS, J.L.M.; PEREIRA, M.H.C. ; WILTBANK, M.C. ; GUIDA, T.G. ; LOPES JR., F. R. ; SANCHES JR., C. P. ; BARBOSA, L. F. S. P. ; COSTA JR., W. M. ; MUNHOZ, A. K. . Evolution of fixed-time AI in dairy cattle in Brazil. In: International Ruminant Reproduction Symposium, 10, 2018, Foz do Iguaçu-PR. Abstracts... Anim Reprod., Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal - CBRA, 2018. v. 15. p. 950-951.

WILTBANK MC, BAEZ GM, COCHRANE F, BARLETTA RV, TRAYFORD CR, JOSEPH RT. 2015. Effect of a second treatment with prostaglandin F-2 alpha during the Ovsynch protocol on luteolysis and pregnancy in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, 98:8644-8654.

WILTBANK MC, PURSLEY JR. 2014. The cow as an induced ovulator: timed AI after synchronization of ovulation. **Theriogenology**, 81:170-185.

WILTBANK MC, SARTORI R, HERLIHY MM, VASCONCELOS JLM, NASCIMENTO AB, SOUZA AH, AYRES H, CUNHA AP, KESKIN A, GUENTHER JN, GUMEN A. 2011a. Managing the dominant follicle in lactating dairy cows. **Theriogenology**, 76:1568-1582.

WILTBANK MC, SOUZA AH, CARVALHO PD, BENDER RW, NASCIMENTO AB. 2011b. Improving fertility to timed artificial insemination by manipulation of circulating progesterone concentrations in lactating dairy cattle. **Reprod Fertil Dev**, 24:238-243.

Resumo

Este estudo compara a fertilidade do sêmen sexado e convencional de 6 diferentes touros Holandeses em vacas holandesas lactantes submetidas a protocolo de (IATF). Foram utilizadas 116 novilhas e 978 vacas em lactação, sincronizadas com o seguinte protocolo de IATF: D-11, 2mg de benzoato de estradiol i.m (Gonadiol®, Zoetis, SP, Brasil) + 100 mg diacetatotetraidratado de gonadorelina i.m (vacas) (Cystorelin®, Merial, SP, Brasil) administrados concomitante à inserção do dispositivo intravaginal de 1,9 g de P4 (CIDR®, Zoetis, SP, Brasil); No D-4, foi administrado 25 mg de dinoprost i.m (vacas) ou 12,5 mg (novilhas) (Lutalyse®, Zoetis, SP, Brasil); No D-2, 25 mg de dinoprost i.m (vacas) ou 12,5 mg (novilhas) (Lutalyse®, Zoetis, SP, Brasil) + 1,0 mg (vacas) ou 0,5 mg (novilhas) de cipionato de estradiol i.m (ECP, Zoetis, SP, Brasil) + remoção do dispositivo intravaginal; no D0 IATF os animais foram divididos aleatoriamente para serem inseminadas com sêmen sexado ou convencional. A taxa de concepção média do sêmen convencional foi maior que a do sêmen sexado aos 31 dias [35,6% (198/557) vs. 25,7% (138/537)], e aos 59 dias [28,7% (160/557) vs. 20,7% (111/537)], respectivamente. As perdas de gestação não diferiram entre sêmen convencional e sexado [19,2% (38/198) vs. 19,6% (27/138)]. Não houve diferença na taxa de concepção aos 31 dias no sêmen convencional e sexado em novilhas [45,76% (27/59) vs. 42,11% (24/57)]; em primíparas [34,69% (51/147) vs. 30,6% (41/134)] em secundíparas [33,33% (53/159) vs. 25,64% (40/156)] porém, foi diferente em múltiparas [34,9% (67/192) vs. 17,37% (33/190)]. Houve efeito de touro no sêmen convencional e sexado. A porcentagem de número de partos foi igual, porém a porcentagem de fêmeas nascidas foi de 51,7% (62/120) no convencional e 87,5% (77/88) no sêmen sexado. A produção de leite da progênie acumulada aos 100 dias foi igual entre os tratamentos (CV = 3049,1kg vs. SX = 2987,7 kg). Diferentes estratégias na utilização do sêmen sexado podem ser utilizadas para conseguir resultados semelhantes ao sêmen convencional, como utilização em novilhas, primíparas e secundíparas.

Palavras – chave: fertilidade, sincronização, sexagem

Abstract

Semen sexing effect on fertility TAI and productivity of daughters

This study aimed to evaluate the fertility of sexed and conventional semen from 6 different bulls in Dairy lactating cows submitted to a TAI protocol. The total of 116 heifers and 978 lactating cows synchronized with the following TAI protocol: D-11, 2mg estradiol benzoate i.m (Gonadiol®, Zoetis, SP, Brazil) + 100mg gonadorelin diacetatetetrahydrate i.m (cows) (Cystorelin®, Merial, Brazil) administered concomitantly with the insertion of the intravaginal device of 1.9 mg P4 (CIDR®, Zoetis, SP, Brazil); In D-4, 25 mg (cows) or 12,5 mg (heifers) of dinoprost i.m (Lutalyse®, Zoetis, SP, Brazil) was administered; In D-2, 25 mg (cows) and 12,5 mg (heifers) of dinoprost i.m (Lutalyse®, Zoetis, SP, Brazil) + 1.0 mg (cows) or 0.5mg (heifers) estradiol cypionate i.m (ECP, Zoetis, SP, Brazil) + intravaginal device removal; in D0 TAI. The animals were randomly divided to be inseminated with either sexed or conventional semen. The conventional mean was higher than the sexed at 31 days [35.6% (198/557) vs. 25.7% (138/537) and at 59 days [28.7% (160/557) vs. 20.7% (111/537)], respectively. Pregnancy loss did not differ between conventional and sexed semen [19.2% (38/198) vs. 19.6% (27/138)]. There was no difference in conception rate at 31 days in conventional and sexed semen in heifers [45.76% (27/59) vs. 42.11% (24/57)]; in primiparous [34.69% (51/147) vs. 30.6% (41/134)] in second part [33.33% (53/159) vs. 25.64% (40/156)], but it was different in multiparous [34.9% (67/192) vs. 17.37% (33/190)]. There was a bull's effect on conventional and sexed semen. The percentage of births was the same, but the percentage of females born was 51.7% (62/120) in the conventional and 87.5% (77/88) in sexed semen. The progeny milk production accumulated in 100 days was equal between the treatments (CV = 3049.1 kg vs. SX = 2987.7 kg). Different strategies can be applied in the use of sexed semen to obtain similar results to conventional semen, such as the use in heifers, primiparous and secondiparous.

Key words: fertility, synchronization, sexing

1. Introdução

A teoria de que o ambiente materno durante a gestação modula a saúde e a doença da prole tem sido repetidamente demonstrada (WADHWA et al., 2009; SCHULZ, 2010). A programação do fenótipo adulto pode ocorrer nos estágios iniciais do desenvolvimento embrionário, durante o período de pré-implantação (FLEMING et al. 2015 e HANSEN et al. 2016). Além disso, mudanças epigenéticas em gametas masculinos também podem desempenhar um papel na programação do fenótipo da progênie (RANDO E SIMMONS, 2015 e SCHAGDARSURENGIN E STEGER, 2016).

Em estudo retrospectivo, Siqueira et. al., (2017) observaram características de sobrevivência, crescimento e produção da progênie provenientes de IA (sêmen convencional), FIV (sêmen convencional), FIV (sêmen sexado) e TE (sêmen convencional). Relataram que bezerros provenientes de FIV (sêmen sexado) tiveram uma mortalidade cumulativa maior de 90 a 180 dias de idade em comparação com a prole de IA e o fenótipo alterado da prole da FIV (sêmen sexado) estendeu-se à produção de leite na vida adulta, onde vacas derivadas dessa técnica produziram menos leite, gordura e proteína em sua primeira lactação em comparação com vacas leiteiras derivadas de IA.

Os procedimentos associados à produção in vitro de embriões envolvendo o uso de sêmen sexado para fertilização resultam em uma alteração da programação embrionária que persiste após o nascimento e causa um efeito na produção de leite na vida adulta.

2. Objetivos

Este estudo tem como objetivo comparar a fertilidade do sêmen sexado e convencional de 6 diferentes touros, utilizando novilhas e vacas holandesas em lactação submetidas a protocolo de IATF a base de GnRH + E2/P4. Também foram avaliados efeitos após concepção, como: taxa de nascimento dos diferentes tipos de sêmen, porcentagem de partos, porcentagem de fêmeas viáveis, produtividade da

aleatoriamente para produzir a prole estudada, dentro do mesmo rebanho. Não houve efeito na produção de leite no acumulado aos 100 dias da primeira lactação ($P=0,39$) e média ($P=0,39$) (Tabela 9).

Tabela 9 – Produção de leite da progênie descendente de sêmen convencional ou sexado:

Item	SÊMEN		EPM	P=
	CV	SX		
Acumulado 100d	3049.1 (29)	2987.7 (43)	46.4	0.39
Média 100d	30.49 (29)	29.88 (43)		

Em contrapartida do encontrado por Siqueira et. al., (2017) o qual avaliou retrospectivamente a produção de leite projetada aos 305 dias de animais provenientes de IA (sêmen convencional), FIV (sêmen convencional), FIV (sêmen sexado) e TE (sêmen convencional), onde animais provenientes do grupo IA tiveram maior produção de leite que animais do grupo FIVsx ($p<0,01$). Analisando por outro lado, a alteração no fenótipo adulto observado pode estar relacionada com o processo de fertilização in vitro ou transferência de embrião e não ao procedimento de sexagem de sêmen, ou talvez uma interação entre ambos.

6. Conclusões

A fertilidade do sêmen sexado depende da categoria animal o qual será utilizado, pois quanto menor o número de partos, melhor é o desempenho do sêmen sexado.

A progênie do sêmen sexado tem produtividade igual a proveniente de sêmen convencional.

7. Referências Bibliográficas

ANDERSSON M, TAPONEN J, KOMMERI M, DAHLBOM M, 2006: Pregnancy rates in lactating Holstein-Friesian cows after artificial insemination with sexed sperm. **Reproduction Domestic Animal**, 41, 95-97.

CARVALHO, P.D, SOUZA, A.H, AMUNDSON, M.C et. Al., 2014. Relationships between fertility and postpartum changes in body condition and body weight in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 97:1-18.

BAEZ GM, BARLETTA RV, GUENTHER JN, GASKA JM, WILTBANK MC. Effect of Uterine Size on Fertility of Lactating Dairy Cows, **Theriogenology** (2015), doi: 10.1016/j.theriogenology.2015.04.022.

CHEBEL, R.C., GUAGNINI, F.S., SANTOS, J.E.P., FETROW, J.P., LIMA, J.R., 2010. Sex-sorted semen for dairy heifers: effects on reproductive and lactational performances. **Journal of Dairy Science**, 93, 2496-2507.

COLE, J. B., G. R. WIGGANS, AND P. M. VANRADEN. 2007. Genetic evaluation of stillbirth in United States Holsteins using a sirematernal grandsire threshold model. **Journal of Dairy Science**, 90:2480–2488.

DEJARNETTE, J.M., LEACH, M.A., NEBEL, R.L, MARSHALL, C.E., MCCLEARY, C.R., MORENO, J.F., 2011. Effects of sex-sorting and sperm dosage on conception rates of Holstein heifers: is comparable fertility of sex-sorted and conventional semen plausible? **Journal Dairy Science**, 94, 3477-3483.

DEJARNETTE, J.M., MCCLEARY, C.R., LEACH, M.A., MORENO, J.F., NEBEL, R.L., MARSHALL, C.E., 2010. Effects of 2.1 and 3.5 x 10⁶ sex-sorted sperm dosages on conception rates of Holstein cows and heifers. **Journal Dairy Science**, 93, 4079-4085.

DEJARNETTE, J. M., NEBEL.R. L. AND MARSHALL. C. E. 2009. Evaluating the success of sex-sorted semen in US dairy herds from on farm records. **Theriogenology**, 71:49–58.

DEJARNETTE, J. M., R. L. NEBEL, C. E. MARSHALL, J. F. MORENO, C. R. MCCLEARY, AND R. W. LENZ. 2008. Effect of sex-sorted sperm dosage on conception rates in Holstein heifers and lactating cows. **Journal. Dairy Science.** 91:1778–1785.

DOYLE SP, SEIDEL GE JR, SCHENK JL, HERICKHOFF LA, CRAN DG, GREEN RD. Artificial insemination of lactating Angus cows with sexed semen. **Proc Western Sect Am Sot Animal Science** 1999;50:203- 205.

FLEMING, T. P., A. J. WATKINS, C. SUN, M. A. VELAZQUEZ, N. R. SMYTH, AND J. J. ECKERT. 2015. Do little embryos make big decisions? How maternal dietary protein restriction can permanently change an embryo's potential, affecting adult health. **Reprod. Fertil. Dev.** 27:684. <https://doi.org/10.1071/RD14455>.

FRIJTERS ACJ, MULLAART E, ROELOFS RMG, VAN HOORNE RP, MORENO JF, MORENO O, MERTON JS, 2009: What affects fertility of sexed bull semen more, low sperm dosage or the sorting process? **Theriogenology**, 71, 64–67.

HANSEN, P. J., K. B. DOBBS, A. C. DENICOL, AND L. G. B. SIQUEIRA. 2016. Sex and the preimplantation embryo: Implications of sexual dimorphism in the preimplantation period for maternal programming of embryonic development. **Cell Tissue Res.** 363:237–247. <https://doi.org/10.1007/s00441-015-2287-4>.

KARAKAYA, E., YILMAZBAS-MECITOGLU, G., KESKIN, A., ALKAN, A., TASDEMIR., SANTOS J.E.P., GUMEN, A. Fertility in Dairy Cows After Artificial Insemination Using Sex Sorted Sperm or Conventional Semen. **Reproduction in Domestic Animals**, n.49, 333-337(2014).

LARSON, J.E.; LAMB, G.C.; FUNNELL, B.J.; BIRD, S.; MARTINS, A.; RODGERS, J.C. Embryo production in superovulated Angus cows inseminated four times with sexed-sorted or conventional frozen-thawed semen. **Theriogenology**, New York, v. 73, p. 698-703, 2010.

NRC. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.

PEREIRA, M.H.C.; WILTBANK, M.C.; GUIDA, T.G. ; LOPES, F.R.

; VASCONCELOS, J.L.M. . Comparison of 2 protocols to increase circulating progesterone concentration before timed artificial insemination in lactating dairy cows with or without elevated body temperature. **Journal of Dairy Science**, v. 100, p. 8455-8470, 2017.

POTTER, S. R., B. J. PAUS, J. M. DEJARNETTE, AND R. L. NEBEL. 2009. A case study of experiences with use of sex-sorted semen in superovulated Holstein cows and heifers in a single herd. **Journal of Dairy Science**, 92(E-Suppl. 1):79. (Abstr.).

RANDO, O. J., AND R. A. SIMMONS. 2015. I'm eating for two: Parental dietary effects on offspring metabolism. **Cell** 161:93–105. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.02.021>.

SÁ FILHO MF, GIROTTO R, ABE EK, PENTEADO L, CAMPOS FILHO EP, MORENO JF ET AL. Optimizing the use of sex-sorted sperm in timed artificial insemination programs for suckled beef cows. **Journal Animal Science** 2012.90:1816–23.

SÁ FILHO, M. F.; MARQUES, M. O.; GIMENES, L. U.; TORRES-JÚNIOR, J. R. S.; BATISTA, E. O. S.; CARVALHO, J. P. B.; BARUSELLI, P. S. Prostaglandin treatment at the onset of norgestomet and estradiol-based synchronization protocols did not alter the ovarian follicular dynamics or pregnancy per timed artificial insemination in cyclic *Bos indicus* heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 144, p. 1-5, 2014.

SALES, J.N.S. ; NEVES, K.A.L., SOUZA, A.H., ; CREPALDI, G.A. ; SALA, R.V. ; FOSADO, M., FILHO, E.P.C., DE FARIA, M., FILHO, M.F.S., BARUSELLI, P.S.,2011. Timing of insemination and fertility in dairy and beef cattle receiving timed artificial insemination using sex-sorted sperm. **Theriogenology**, v. 76, p. 427-435, 2011.

SARTORI, R., A. H. SOUZA, J. N. GUENTHER, D. Z. CARAVIELLO, L. N. GEIGER, J. L. SCHENK, AND M. C. WILTBANK. 2004. Fertilization rate and embryo quality in superovulated Holstein heifers artificially inseminated with X-sorted or unsorted sperm. **Animal. Reproduction**. 1: 86–90.

SANTOS, J. E. P., RUTIGLIANO, H. M., AND SÁ FILHO, M. F. (2009). Risk factors

for resumption of postpartum estrous cycles and embryonic survival in lactating dairy cows. **Animal. Reproduction. Science.** **110**, 207–221.

SANTOS JEP, THATCHER WW, CHEBEL RC, CERRI RLA, GALVÃO KN, 2004: The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. **Animal Reproduction Science** 82–83, 513–535.

SAS Institute. 2004. SAS OnlineDoc 9.1.2. SAS Inst. Inc., Cary, NC.

SCHAGDARSURENGIN, U., AND K. STEGER. 2016. Epigenetics in male reproduction: Effect of paternal diet on sperm quality and offspring health. **Nat. Rev. Urol.** 13:584–595. <https://doi.org/10.1038/nrurol.2016.157>.

SCHENK JL, SUH TK, SEIDEL JR GE. Embryo production from superovulated cattle following insemination of sexed sperm. **Theriogenology**, 65:299-307, 2006.

SIQUEIRA, L. G. B.; DIKMEN. S.; ORTEGA. M. S.; HANSEN. P. J. Postnatal phenotype of dairy cows is altered by in vitro embryo production using reverse X-sorted semen. **Journal of Dairy Science.**Vol. 100 No. 7, 2017.

SEIDEL JR GE, SCHENK JL, HERICKHOFF SP. 1999. Insemination of heifers with sexed sperm. **Theriogenology**, v.62, p.248-252.

SCHULZ, L. C. 2010. The Dutch Hunger Winter and the developmental origins of health and disease. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 107:16757–16758. <https://doi.org/10.1073/pnas.1012911107>.

WADHWA, P. D., C. BUSS, S. ENTRINGER, AND J. M. SWANSON. 2009. Developmental origins of health and disease: Brief history of the approach and current focus on epigenetic mechanisms. **Semin. Reprod. Med.** 27:358–368. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1237424>.

WILDMAN, E.E., JONES, G.M., WAGNER, P.E. et al. 1982. A dairy body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. **Jounal Dairy Science**, 65(3):495-501.