



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Câmpus de Ilha Solteira

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE ENGENHARIA
CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA

Histórico da Inseminação artificial em bovinos

Thalita Monteiro Araújo Silva

Ilha Solteira – SP
Janeiro / 2023

Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira

Cursos: Agronomia, Ciências Biológicas, Eng. Civil, Eng. Elétrica, Eng. Mecânica, Física, Matemática e Zootecnia. Avenida Brasil Centro, 56 CEP 15385-000
Ilha Solteira São Paulo Brasil pabx (18) 3743 1000 fax (18) 3742 2735 scom@adm.feis.unesp.br www.feis.unesp.br



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Ilha Solteira

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

FACULDADE DE ENGENHARIA

CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA

Histórico da Inseminação artificial em bovinos

Thalita Monteiro Araujo Silva

Prof. Dr. Alan Peres Ferraz de Melo
Orientador

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - Unesp como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharela em Ciências Biológicas.

Ilha Solteira - SP
Janeiro / 2023

FICHA CATALOGRÁFICA

Desenvolvido pelo Serviço
Técnico de Biblioteca e
Documentação

S586h Silva, Thalita Monteiro Araújo.
Histórico da inseminação artificial em bovinos / Thalita Monteiro Araújo
Silva. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2023
36 f. : il.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Ciências Biológicas) -
Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, 2023

Orientador: Alan Peres Ferraz de Melo
Inclui bibliografia

1. Inseminação artificial. 2. Tecnologias de IA. 3. Histórico da IA. 4. Produção
animal. 5. Bovinos.


Raiane da Silva Santos
Supervisora Técnica de Seção
Seção Técnica de Referência, Atendimento ao usuário e Documentação
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação
CBB - 2022

ATA DE DEFESA DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

"HISTÓRICO DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM BOVINOS"

THALITA MONTEIRO ARAUJO SILVA

REGULAMENTO SOBRE A AVALIAÇÃO:

Artigo 25º - § 2º A apresentação pública do trabalho de TCC deverá ser de no mínimo 20 (vinte) minutos e máxima de 40 (quarenta) minutos. Após um intervalo de 5 (cinco) minutos, haverá a arguição do Trabalho pelos examinadores. O tempo de arguição, será de até 15 (quinze) minutos para cada examinador, e até 15 (quinze) minutos o tempo para a resposta do(a) aluno(a) a cada examinador ou no caso de se optar pelo diálogo o tempo conjunto entre examinador e acadêmico(a) será de no máximo 30 (trinta) minutos.

Artigo 24º - No julgamento do TCC, a banca examinadora deverá avaliar a apresentação oral, escrita e a defesa do trabalho durante a arguição. O conceito final será APROVADO(A) ou REPROVADO(A).

COMISSÃO EXAMINADORA

1º EXAMINADOR (Orientador-Presidente)

Nome: Prof. Dr. Alan Peres Ferraz de Melo



2º EXAMINADORA

Nome: Profa. Dra. Cristiele da Silva Ribeiro



3º EXAMINADORA

Nome: Ma. Bianca Luany Inhá Godoy



CONCEITO

 Aprovado(a) Reprovado(a)

Ita Solteira-SP, 11 de janeiro de 2023.

DEDICATÓRIA

A Deus por ter me dado saúde e forças para chegar até aqui e não desistir, sem ele eu não seria nada.

Aos meus pais que sempre me incentivaram e me deram apoio, é por eles que cheguei até aqui.

Ao meu orientador Alan Peres pela grande contribuição ao meu desenvolvimento acadêmico me orientando para a construção desse trabalho.

As minhas amigas Alessandra Pereira e Luana Cardoso, que me ensinaram a nunca desistir dos meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus em primeiro lugar, sem ele eu sei que nada disso seria possível, e sei que depois disso ele vai me proporcionar mais coisas que julgo ser impossível e conquistar, mas para ele nada é impossível.

Ao meu meu pai José Araújo que sempre trabalhou duro em dois serviços para que nada nos faltasse, chegava em casa e já ia para outro, muitas vezes nem via a hora que ele voltava para dormir, pois trabalha muito, mas estava sempre sorrindo, mesmo assim eu sabia que ele estava cansado e ele não deixava ninguém ver, pois não queria eu a gente soubesse.

A minha mãe Maria Monteiro que me inspirou a chegar até aqui, ela nunca desistiu de lutar pela sua vida, desde 2017 ela lutou contra o câncer e quase vi minha mãe partir duas vezes nesse período da faculdade, não foi nada fácil lidar com tudo isso psicologicamente, mas eu olhava para ela e sabia que um dia ela ia ainda me ver graduando, eu sabia disso, e orava todos os dias para Deus curar ela, muitas vezes desejei que a dor que ela estava sentindo estivesse comigo e não com ela, mas isso não era possível, e um dia ela chorando de dor e eu prestes a ir para uma prova, entrei no meu quarto e fiz uma oração pra Deus, porque eu precisava deixar ela, mas não queria deixar naquele estado, e naquele exato momento ela parou de chorar e a dor foi embora, mas graças a Deus ela ficou livre dessa doença e hoje vejo o quanto guerreira ela foi e é por isso que não desisti, por ela, por eles.

Ao meu irmão Thiago Monteiro que é meu exemplo de superação, sempre me inspirou por sua coragem e nunca desistiu dos seus sonhos e hoje é meu maior orgulho.

Ao meu cunhado Danilo um grande amigo, me aconselhando em tudo que precisava, e que sempre vai estar comigo.

A Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”- Unesp - Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - Feis por ter ajudado no meu desenvolvimento pessoal e profissional.

A todos os meus professores da graduação, que me proporcionaram conhecimentos biológicos, me fazendo pegar amor por essa área. Em especial a professora Cristiéle Ribeiro que me ajudou muito, me auxiliando a ir atrás do que faltava para finalizar o curso de bacharelado, me dando todo apoio, pois sempre que eu precisava de sua ajuda ela sempre estava pronta para me ajudar.

Ao meu orientador Alan peres Ferraz de Melo que me deu todo apoio possível e teve muita paciência comigo durante esse trabalho, entendendo minhas dificuldades em fazer essa revisão bibliográfica por não ser da minha área, e mesmo assim estava lá

me auxiliando com todo seu conhecimento científico e corrigindo o que eu precisava melhorar.

As minhas melhores amigas que conquistei ao longo desse período de graduação e que já estão até formadas, e hoje já não estão mais comigo, mas sempre vão estar em meu coração e nas minhas melhores memórias, Alessandra Pereira que sempre me deu muita alegria e me incentivou, Luana Cardoso que sempre foi meu exemplo durante esse processo, pois ela é uma das pessoas mais guerreiras que já conheci, Alice que era minha companhia nos estudos, Yasmin Amadio por ser minha companheira de alegria, mas também estava sempre presente quando eu precisava de um ombro amigo, cada uma delas teve seu papel durante esse processo, amo todas vocês.

A persistência é o caminho do êxito.

Charles Chaplin

RESUMO

A inseminação artificial é um conjunto de técnicas que visa gerar uma prole sem o uso do coito natural e sim por métodos que envolvem intervenção humana no processo. A inseminação artificial é de grande importância na pecuária por permitir a seleção e manutenção de características genéticas positivas para a produção de carne e leite que melhoram significativamente sua qualidade. Diversos conhecimentos ao longo do tempo precisaram ser desvendados para que efetivamente pudesse ser feita a inseminação artificial. Esses conhecimentos bem como a evolução tecnológica foram revisados neste trabalho a partir de uma perspectiva cronológica frisando as vantagens e desvantagens dos métodos, com o intuito de servir como base teórica para que tanto pesquisadores da área quanto leigos no assunto possam se embasar.

Palavras-chave: inseminação artificial; tecnologias de IA; histórico da IA; produção animal; bovinos.

ABSTRACT

Artificial insemination is a set of techniques that aims to generate offspring without the use of natural intercourse, but by methods that involve human intervention in the process. Artificial insemination is of great importance in livestock because it allows the selection and maintenance of positive genetic traits for the production of meat and milk that significantly improve its quality. Several pieces of knowledge over time needed to be unveiled so that artificial insemination could be effectively carried out. This knowledge, as well as technological evolution, were reviewed in this work from a chronological perspective, emphasizing the advantages and disadvantages of the methods, with the aim of serving as a theoretical basis for both researchers in the area and laypersons in the subject to be able to base themselves

.Keywords: artificial insemination; AI technologies; AI history; animal production; cattle.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	OBJETIVO.....	14
3	METODOLOGIA	14
4	REVISÃO DA LITERATURA.....	14
4.1	O que é inseminação artificial.....	14
4.2	Histórico de inseminação em bovinos	15
4.3	Histórico da inseminação artificial no Brasil	18
4.4	Aplicações e importância da inseminação artificial bovina	24
4.5	Inovações da inseminação artificial bovina	26
5	CONCLUSÃO.....	30
	REFERÊNCIAS.....	32

1. INTRODUÇÃO

A inseminação artificial (IA) é uma das tecnologias de reprodução assistida (ART) mais importantes, ela visa estabelecer genes bem sucedidos na população em comparação com outras formas, como tecnologias de embriões e acasalamento natural (VISHWANATH, 2013). De modo mais simplista, segundo Mies Filho (1987), a IA é uma técnica específica que coleta o sêmen de um macho, por meio artificial, e introduz no útero da fêmea, dispensando assim o processo de monta. Os três pilares para sua aplicação são: simplicidade, economia e sucesso. A importância da IA será desafiada nas próximas décadas (VISHWANATH, 2013).

A tecnologia de reprodução assistida (ART) desempenha um papel central ao permitir um rápido progresso genético, proporcionando aos rebanhos o potencial de produzir leite durante todo o ano, encurtando os ciclos reprodutivos e aumentando a fertilidade e a prolificidade de acordo com os objetivos de produção (MACIEL et al., 2017). A principal força motriz por trás da IA foi seu potencial para aumentar a taxa de ganho genético em populações de gado pelo uso generalizado de reprodutores com mérito genético de elite (MOORE; HASLER, 2017).

Muitos conhecimentos foram necessários para que a inseminação artificial fosse possível. Um dos conhecimentos mais importantes foi a descoberta do espermatozóide em 1674, pelos estudantes Nicolaas Hartsoeker (1656-1725) e van Leeuwenhoek que foram os primeiros a examinar o sêmen microscopicamente (LONERGAN, 2018). A inseminação artificial foi aplicada pela primeira vez com sucesso em gado no início de 1900. No século 20 muitas tecnologias foram criadas para o aprimoramento da inseminação artificial como a invenção do eletroejaculador, teste de progênie, adição de antibióticos ao sêmen, descoberta da criopreservação de esperma com glicerol, a superovulação de bovinos com gonadotrofina sérica de, FSH, capacitação espermática, e o desenvolvimento de tanques de nitrogênio líquido isolados. Seguiram-se os extensores de sêmen aprimorados e a substituição de ampolas de vidro por canudos de sêmen de plástico. Ainda nas décadas posteriores foi desenvolvida a cultura in vitro de embriões, bezerros nascidos após sexagem cromossômica como embriões, divisão de embriões resultando no nascimento de gêmeos e desenvolvimento de análise de sêmen assistida por computador. E mais

atualmente foi utilizado a citometria de fluxo para separação de espermatozoides portadores de X e Y, fertilização in vitro levando ao nascimento de bezerros vivos, clones produzidos por transferência nuclear de células embrionárias e coleta de óvulos por aspiração folicular guiada por ultrassom (MOORE; HASLER, 2017).

Sabendo de todas essas tecnologias faz-se necessário uma revisão histórica para compreender o papel de cada tecnologia na construção do conhecimento e aplicação da inseminação artificial como ela é hoje.

2. OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi revisar o desenvolvimento histórico da inseminação artificial de bovino, frisando a importância das tecnologias.

3. METODOLOGIA

Foram pesquisados artigos de 1922 até 2022 utilizando as plataformas de pesquisa Google Acadêmico e PubMed, e os seguintes termos foram inseridos: “artificial insemination in cattle”, “history of artificial insemination in cattle”, “artificial insemination technologies” e “innovation in artificial insemination”.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 O que é inseminação artificial

A inseminação artificial (IA) é uma biotecnologia reprodutiva, ela é usada como ferramenta para realizar o melhoramento genético dos bovinos, nessa técnica se destaca a seleção e a replicação de touros que possuem um alto valor genético, sendo assim, ela possibilita que se faça bezerros mais qualificados que contenham incremento de produtividade e receita. Segundo a Associação Brasileira de Inseminação Artificial (ASBIA,2021), o uso de IA em 2021 foi de 4.463 municípios e observou-se que 80,1% fizeram o uso dessa tecnologia, com crescimento de 4,1% comprado ao ano anterior, que teve um crescimento de 76,9%, sendo que em 2021 coletaram-se 23.919.732 e importaram 11.978.662 doses de sêmen, chegando ao

total de 35.898.394 doses, com isso esses valores representam aumento comprado ao ano anterior de 40,4% (BORGES et al., 2022).

Existem algumas categorias dentro da IA: a fertilização in vitro (FIV), que é a fertilização ocorrendo fora do corpo; a injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), onde um espermatozoide é injetado no oócito; a transferência de embriões (TE), na qual o embrião é transferido para uma fêmea receptora; a transferência intrafalópica de gametas (GIFT), onde os espermatozoides são injetados no oviduto para ficarem próximos ao local da fertilização in vivo e, ainda, a criopreservação de espermatozoides, onde embriões ou oócitos são criopreservados em baixas temperaturas em nitrogênio líquido (MANAFI, 2011). Para a criação dessas tecnologias muitos conhecimentos foram importantes e serão revisados a seguir em ordem cronológica.

4.2 Histórico de inseminação em bovinos

A inseminação artificial (IA) foi utilizada pela primeira vez no ano de 1332, em equinos, pelos árabes. Porém, a história registra como marco inicial da IA o ano de 1779, quando o monge italiano Lazzaro Spalanzani demonstrou que o poder fertilizante do sêmen residia nos espermatozoides (PEGORARO; SAALFELD; PRADIEÉ, 2016).

A inseminação artificial foi bem sucedida pela primeira vez em bovinos no início de 1900 na Rússia e na Dinamarca (IVANOFF, 1922; PERRY, 1945). Porém diversos conceitos básicos da embriologia precisaram ser elucidados para construir as bases teóricas para aplicação da inseminação artificial na prática, fato demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1 - Eventos importantes para a compreensão da biologia reprodutiva antes do início de 1900

Evento	Ano
De Graaf descreve a estrutura do testículo.	1668
De Graaf descreve a estrutura do folículo.	1672
Van Leuwenhoek e Ham descrevem espermatozóides.	1678
Spallanzani relata IA de uma cadela seguida de nascimento de filhotes.	1784
Spallanzani relata que o esperma sobreviveu ao resfriamento.	1803
Von Baer descreve oócitos.	1827
Kölliker demonstra que os testículos produzem espermatozóides.	1841
Barry observa a fusão de esperma e oócito.	1843
Leydig descreve as células de Leydig.	1851
Sertoli descreve as células de Sertoli.	1865
Waldeyer descreve a formação do ovário e do oócito.	1870
Von Ebner descreve a espermatogênese.	1871
Dreisch demonstra a geminação artificial de embriões no ouriço-do-mar (um invertebrado).	1885
Heape realiza a primeira transferência de embriões de mamíferos.	1890
Spemann demonstra a geminação artificial de embriões na salamandra (um vertebrado).	1902

Fonte: Moore; Hasler et al., 2017

O nascimento dos primeiros bezerros a partir do uso de sêmen congelado-descongelado (POLGE; ROWSON, 1952) e embriões (WILMUT; ROWSON, 1973) representou marcos para a época, o que possibilitou a viabilidade e o crescimento de operações de IA e transferência de embriões (ET) em larga escala globalmente. Hoje, a grande maioria das IA e TE são realizadas com sêmen e embriões congelados-descongelados graças ao uso do nitrogênio líquido como métodos de congelamento que permite a viabilidade das células (VISHWANATH, 2003; HASLER, 2014).

Técnicas para ovulação múltipla e transferência de embrião (TE) para bovinos passaram a ser desenvolvidas nas décadas de 1940 e 1950, porém, em larga escala só foi ampliado para América do Norte em 1970, para a Europa em 1980 e para a América do Sul em 1990 (HASLER, 2014). A tecnologia de ovulação múltipla e transferência de embriões (MOET) é uma técnica reprodutiva que visa principalmente fertilizar vários oócitos em um período de tempo mais curto para produzir embriões

mais viáveis, que são transferidos para o receptor, resultando em uma maior taxa de natalidade. Essa tecnologia é baseada na sincronização do estro e estimulação hormonal dos animais doadores, seguida da IA e, por fim, da coleta e transferência de embriões viáveis para o animal receptor (LEONI et al., 2001; RAHMAN et al., 2014; MACIEL et al., 2017).

Desenvolvimentos *in vitro* na maturação de oócitos e capacitação espermática, fertilização e cultura de embriões durante as décadas de 1970 e 1980 levaram ao nascimento dos primeiros bezerros completamente produzidos *in vitro* em 1987 (LU et al., 1987). A maturação *in vitro* de oócitos é uma importante tecnologia reprodutiva que gera oócitos maduros capazes de suportar o desenvolvimento embrionário pré-implantação e o desenvolvimento completo (GILCHRIST; THOMPSON, 2007). Já capacitação espermática é definida como as modificações funcionais que tornam o espermatozoide competente para fertilizar, abrangendo a sua capacidade de se ligar à zona pelúcida e, posteriormente, sofrer a reação acrossômica, motilidade hiperativada e a capacidade de se fundir com o oócito (BAILEY, 2010).

A captação do óvulo (OPU) para a recuperação repetida de oócitos de fêmeas doadoras vivas foi desenvolvido no final da década de 1980 por Pieterse e colaboradores (1988). Protocolos para a produção de embriões *in vitro* (PIV) foram desenvolvidos na década de 1990 como uma alternativa à ovulação múltipla e TE combinando OPU, fertilização *in vitro* (FIV) e ET (LOONEY et al., 1994). A prática de PIV cresceu rapidamente desde os anos 2000, com operações comerciais de larga escala estabelecidas principalmente na América do Sul (HASLER, 2014).

As técnicas de clonagem para produção de ovelhas idênticas começaram na década de 1970, primeiro por divisão de embriões (WILLADSEN, 1979) e posteriormente substituídas por transferência nuclear (WILLADSEN, 1986; PRATHER et al., 1987). Uma tecnologia muito mais poderosa, no entanto, envolveu o que é chamado de transferência nuclear de células somáticas (SCNT), permitindo a clonagem de um animal cuja genética e morfologia já eram conhecidas. A ovelha Dolly foi o primeiro exemplo de sucesso com SCNT (WILMUT et al., 1997). A técnica também foi aplicada à produção de gado transgênico (CIBELLI et al., 1998) e até agora encontrou seu maior uso na produção de animais transgênicos e editados por genes para pesquisa ou uso farmacêutico. Exemplos incluem o desenvolvimento de bovinos com resistência à mastite (LIU et al., 2014) e características mocho

(CARLSON et al., 2016). A transferência nuclear pode ser combinada com a seleção genômica para acelerar ainda mais o ganho genético, reduzindo o intervalo de geração (KASINATHAN et al., 2015).

A produção de descendentes de sexo pré-determinado é muito procurada pelos produtores de gado. A classificação de espermatozoides portadores de cromossomos X e Y por citometria de fluxo tem sido possível desde a década de 1980 (GARNER et al., 1983), mas os procedimentos iniciais mataram os espermatozoides. Em 1989 que a primeira cria de sêmen sexado nasceu (JOHNSON et al., 1989), sendo esses de coelhos. Já em 1993 foi quando o primeiro bezerro de sêmen sexado nasceu (CRAN et al., 1993). Nos últimos anos, o uso de sêmen sexado cresceu internacionalmente na medida em que o sêmen bovino está sendo classificado por sexo em aproximadamente 15 países.

Os próximos grandes desenvolvimentos envolveram extensores de sêmen, invenção do eletroejaculador, teste de progênie, adição de antibióticos ao sêmen durante as décadas de 1930 e 1940 e a grande descoberta da criopreservação de esperma com glicerol em 1949 (MOORE; HASLER, 2017). Os antibióticos são adicionados aos diluentes de sêmen para serem usados para inseminação artificial (IA) na pecuária para controlar a contaminação bacteriana no sêmen que surge durante a coleta e processamento. Os antibióticos a serem adicionados e suas concentrações para sêmen para comércio internacional são especificados por diretrizes governamentais (MORRELL; WALLGREN, 2014). Portanto, essas tecnologias tornaram possível a produção em larga escala de proteína animal e de leite no mundo, porém no Brasil historicamente a aplicação da técnica foi diferente, sendo revisada a seguir.

4.3 Histórico da Inseminação artificial no Brasil

O Brasil ocupa posição de destaque no cenário mundial da indústria de carne bovina. Atualmente, a pecuária brasileira possui uma dos maiores rebanhos comerciais do mundo, cerca de 208,3 milhões de cabeças (Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne - ABIEC, 2014). O Brasil produziu 10,7 milhões de toneladas de carne bovina em 2014 (ABIEC, 2014), ficando em segundo lugar no ranking mundial de carne.

Além de ser um dos líderes no mercado de exportação de carne bovina, o Brasil é destaque no meio científico desenvolvimento e aplicação comercial de biotecnologias reprodutivas. O uso correto de biotecnologias em fazendas desempenham um papel crítico na produtividade. Entre os reprodutores, foram utilizados biotecnologias, inseminação artificial programada ou inseminação artificial em tempo fixo (TAI) que elimina a necessidade de detecção de estro, merecendo destaque por facilitar o manejo e melhorando a eficiência reprodutiva e o ganho genético dos rebanhos (BARUSELLI, 2016).

O primeiro bem sucedido experimento de inseminação artificial de bovinos no Brasil aconteceu em 1977 em Cacequi, RS pelo professor da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) Antônio Mies Filho. Na década de 1930, o veterinário Leovigildo Pacheco Jordão, pertencente aos quadros funcionais da Secretaria da Agricultura do estado de São Paulo, começou a desenvolver os seus primeiros experimentos em 1938. Seu interesse maior era sobre a inseminação artificial na espécie bovina, especialmente no gado leiteiro (SEVERO et al., 2015).

Em novembro de 1938 o Governo do Estado de São Paulo criou junto da Estação Experimental de Pindamonhangaba, uma unidade destinada ao estudo e desenvolvimento da inseminação artificial em bovinos. Foi o primeiro estabelecimento oficial dedicado ao estudo da inseminação artificial na América do Sul e os veterinários Leovigildo P. Jordão, João S. Veiga e José Gomes Vieira foram os pioneiros na aplicação da técnica na espécie bovina no país (SEVERO et al., 2015).

Em 1938 o veterinário Leovigildo Pacheco Jordão iniciou os experimentos de inseminação artificial em bovinos, graças aos estudos feitos no período da década de 1930, seu grande interesse era estudar mais a fundo sobre os bovinos leiteiros. Em Novembro de 1938, foi criada um unidade que realizava estudos sobre IA em bovinos, tendo-se responsável técnico o médico-veterinário João Soares Veiga, e com sua tese

intitulada “Vantagens e Plano de Criação de um Posto de Inseminação Artificial no Vale do Paraíba”, apresentada no Congresso Agrônômico do Vale do Paraíba, onde foi demonstrado os benefícios da instalação de um espaço para realização desses trabalhos (MIES FILHO, 1977). Esse lugar passou a ser dedicado a realizar estudos sobre inseminação artificial na América do Sul e os médicos-veterinários Leovigildo P. Jordão, João S. Veiga e José Gomes Vieira foram os pioneiros no uso da técnica na espécie bovina no país. Vieira desenvolveu e divulgou importantes trabalhos sobre a inseminação artificial de aves (VIEIRA, 1939).

Em 1941, o Ministério da Agricultura decidiu aprimorar os estudos inseminação artificial para utilizá-la no melhoramento zootécnico dos rebanhos nacionais e concede à Estação Experimental do Instituto de Biologia Animal (IBA) para ser em Deodoro, no Rio de Janeiro, tudo voltado para o interesse na economia. Os responsáveis nessa unidade foram, os veterinários João Ferreira Barreto e Antônio Mies Filho que tomavam conta dos trabalhos naquela unidade experimental, com isso foi desenvolvido pesquisas sobre inseminação artificial e problemas reprodutivos, e os primeiros trabalhos realizados de inseminação e ovulação experimental foram feitos na coelha (MIES FILHO; BARRETO, 1949).

Também nesse mesmo ano, teve início o primeiro experimento de transporte de sêmen bovino refrigerado a longa distância. Esse feito aconteceu em Pernambuco pelo veterinário do Ministérios da Agricultura, o mesmo era pioneiro da IA nesse estado, José Wanderley Braga, coletou e processou o sêmen de um touro em Recife e enviou por avião até a Estação Experimental de Deodoro. Depois de um relatório realizado na cidade de Deodoro, obtiveram as conclusões de que, as condições de vitalidade do sêmen estavam ótimas (SEVERO, 2015).

Em 1946, foi criado pela Secretaria de Agricultura do Rio Grande do Sul, o Serviço de Inseminação Artificial do Departamento de Produção Animal, sendo seu coordenador o Dr. Ruben Roehe, seus trabalhos eram voltados para o uso da técnica na bacia leiteira dos municípios ao redor de Porto Alegre (RODRIGUES; RODRIGUES, 2009).

Em Minas Gerais, o veterinário Uriel Franco Rocha foi outro pioneiro da inseminação artificial, seus trabalhos visavam compreender mais sobre gado zebu (ROCHA, 1948).

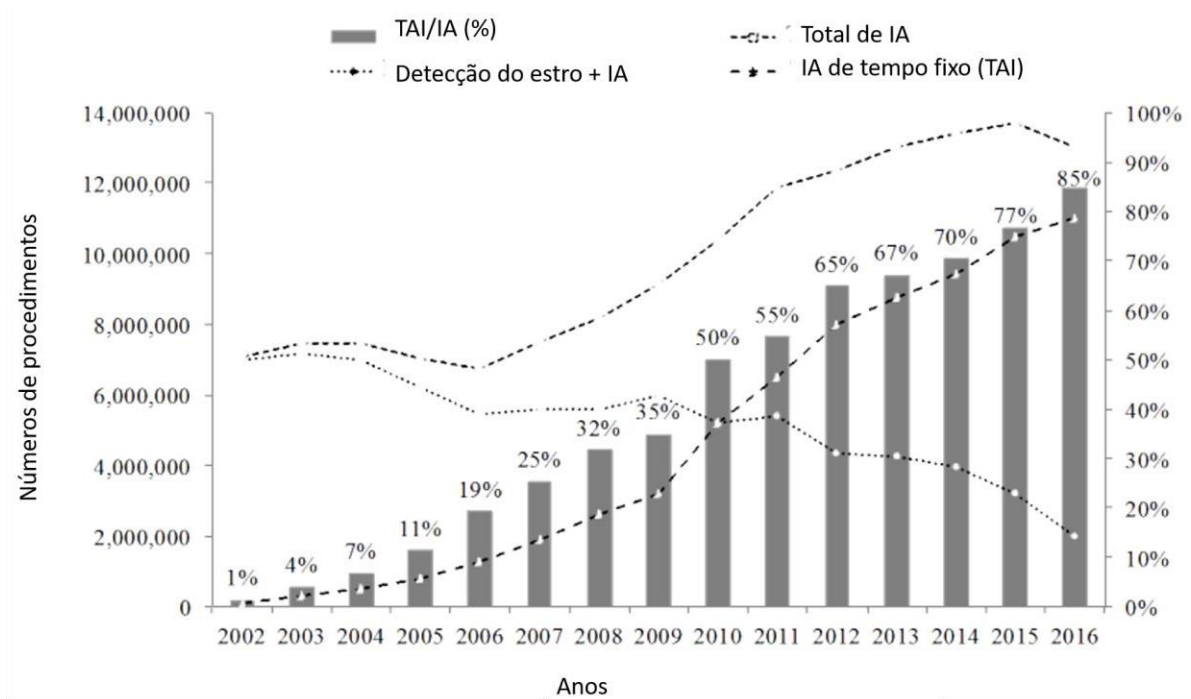
No ano de 1968 em Araçatuba, SP foi criado o primeiro laboratório de tecnologia de sêmen do Brasil, a Central VR na Chácara Zebulândia. Na década de

1970, foram criados muitos outros centros de processamento de sêmen, como a Lagoa da Serra em Sertãozinho (1971), a Sembra, em Barretos (1972), a Tairana, em Presidente Prudente (1974) e a Pecplan Bradesco, em Uberaba (1975) e outras distribuídas nos estados de maior demanda por genética bovina, no Sul e Sudeste principalmente (SEVERO, 2015).

Em 1970, um grupo de veterinários ligados ao Ministério da Agricultura, em fusão com outros interessados, fundou a Pecplan (Pecuária Planejada), primeira empresa importadora de sêmen registrada no Brasil (SEVERO, 2015).

Atualmente, os procedimentos de inseminação artificial em tempo fixo (TAI) correspondem a 85% das inseminações realizadas no Brasil (Figura 1). Podemos observar um avanço nesse tipo de inseminação em comparação com a tradicional e um crescimento muito significativo nos últimos anos. Assim, fica evidente que o TAI ocupa um lugar relevante no mercado de IA (BARUSELLI et al., 2017).

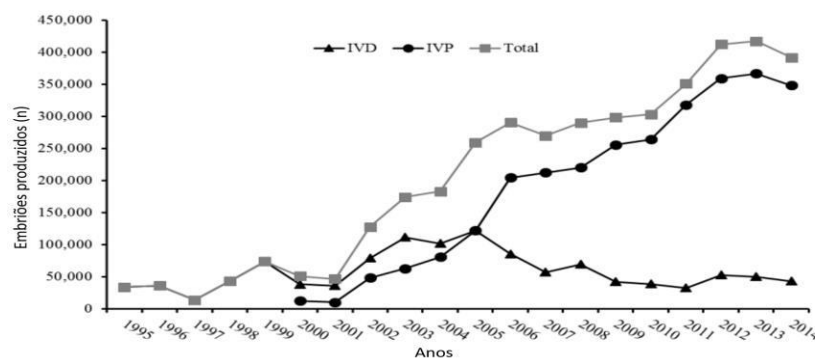
Figura 1 - Evolução temporal da inseminação artificial (IA) e inseminação artificial em tempo fixo (TAI) no Brasil.



Fonte: Adaptado de Baruselli e colaboradores (2017)

Em relação a transferência de embrião e a produção de embriões derivados in vivo (IVD), no Brasil manteve-se relativamente estável, com produção média de 30-40.000 embriões por ano, enquanto a produção in vitro (PIV) de embriões teve um aumento substancial, de cerca de 12.500 embriões IVP em 2000 para mais de 300.000 embriões IVP após 2010 (SARTORI et al., 2016), como podemos observar na figura 2.

Figura 2 - Produção de embriões bovinos no Brasil, segundo a técnica empregada, no período de 1995 a 2014. IVD: embriões produzidos por superovulação (in vivo); IVP: embriões produzidos in vitro.

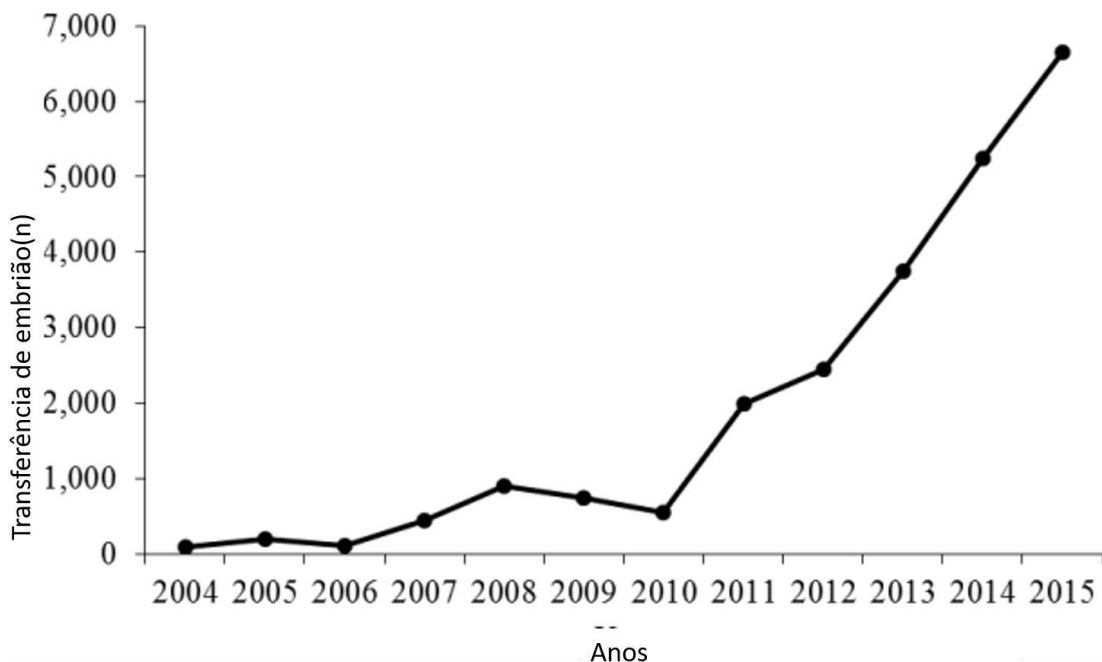


Fonte: Adaptado de Sartori e colaboradores (2016)

O sucesso dos embriões produzidos in vitro IVP no Brasil deveu-se a uma interação complexa de fatores técnicos e econômicos (FABER et al., 2003). Inicialmente, no período desde o surgimento do primeiro IVP comercial de empresas de 1999 a 2003, houve uma taxa relativamente alta custo e baixa eficiência de IVP (HASLER, 2000), mas isso foi compensado pelo alto valor comercial da doadores usados. Assim, durante esta fase inicial de crescimento (primeira fase) a IVP expandiu-se principalmente no mercado de alta acas de mérito genético e o número de IVD e os embriões IVP aumentaram de forma semelhante (SARTORI et al., 2016).

Podemos mostrar o avanço da inseminação artificial nos anos mais recentes pela figura 3 que mostra o número de embriões transferidos de 2004 a 2015 em uma fazenda. Entre 2004 e 2010, houve um pequeno aumento nos embriões transferidos, no entanto, após isso, houve um aumento contínuo no uso de TE. Nos últimos 3 anos, mais de 85% dos bezerros que nasceram nesta fazenda eram do sexo feminino. Atualmente, apenas vacas de alto mérito genético (top 10%) são usadas como doadoras, fornecendo embriões para todo o rebanho (SARTORI et al., 2016).

Figura 3 - Número de embriões transferidos de 2004 a 2015 em uma fazenda leiteira.



Fonte: Adaptado de Sartori e colaboradores (2016).

Apesar de todo o avanço científico e tecnológico ocorrido nos últimos anos, essas biotecnologias ainda são utilizadas em pequena escala nas propriedades rurais. Apenas 13% das vacas e novilhas brasileiras são inseminadas artificialmente, em comparação com 20-22% no mundo (THIBIER; WAGNER, 2002). O mercado brasileiro de IA precisa crescer 5% ao ano nos próximos 10 anos para atingir a média mundial de fêmeas bovinas inseminadas (VIANA et al., 2017). Embora o Brasil seja o maior produtor de embriões do mundo, a intensidade de uso da TE é baixa (número de embriões transferidos/total do rebanho), colocando o país na 11ª posição no mundo (VIANA et al., 2017).

Portanto, a pecuária brasileira precisa intensificar o uso de biotecnologias reprodutivas para o melhoramento genético e produtivo do rebanho. Para mudar esse cenário, programas reprodutivos eficientes que visam aumentar o uso de inseminação artificial e transferência de embriões nas fazendas têm sido desenvolvidos. Esses programas já estão estabelecidos e apresentam um retorno econômico positivo (BARUSELLI et al., 2018), gerando maior produção de carne e leite por área e mais valor para a cadeia produtiva da carne bovina e leiteira (BARUSELLI et al., 2019).

4.4 Aplicações e importância da inseminação artificial bovina

Uma das muitas consequências do desenvolvimento econômico e do aumento populacional que vem crescendo ano a ano é a demanda por alimentos de origem animal que é a principal fonte de proteína da espécie humana. Assim é de interesse aumentar a quantidade e qualidade da produção animal, e por isso o uso do melhoramento genético através de IA possibilita a produção animal de prole com maior produção de carne e de leite (BOETTCHER; PERERA, 2007).

Tecnologias como a IA permitem que um único animal tenha múltiplos progênie, reduzindo o número de progenitores necessários e permitindo significativos aumentos na intensidade de seleção e aumentos proporcionais no melhoramento genético da produção (BOETTCHER; PERERA, 2007).

Para os agricultores, a transição da criação de serviço natural exigiu mudanças no manejo reprodutivo do rebanho. Além dos ganhos genéticos, a IA evitou a necessidade de ter touros em cada fazenda e contribuiu para aumentar a segurança dos funcionários da fazenda. Hoje, o uso da IA cresceu a ponto de internacionalmente aproximadamente 130 milhões de bovinos serem submetidos à IA anualmente (VISHWANATH, 2003).

O uso da IA ao longo da história foi essencial para a saúde dos bovinos, pois era usado como meio de profilaxia para combater as doenças genitais, como a brucelose, a tricomoníase, entre outras. Em primeiro momento foi utilizado na Dinamarca em 1938-1939, sendo criadas cooperativas da técnica de IA com intuito de melhorar a qualidade da zootecnia bovina. Isso porque a possibilidade de transmissão de infecções sexualmente transmissíveis (IST) através da IA é drasticamente reduzida, pois todos os machos destinados à coleta de sêmen são objeto de numerosos e sofisticados testes, fora do alcance do criador comum (DA SILVA, 2020).

A Inseminação artificial de tempo fixo está atualmente implementada no Brasil em 8,2 milhões de vacas de corte, gerando um aumento de 8% na produção de bezerros, que representa aproximadamente 656 mil bezerros a mais por ano ou um adicional faturamento de R\$ 820 milhões/ano (~US\$ 253 milhões) em comparação com a criação de serviço natural. A IA de tempo fixo também acelera o parto e agrega ganho genético aos rebanhos, gerando um ganho médio de 20 kg na desmama peso dos bezerros, o que representa 3,3 milhões de bezerros desmamados com 20 kg extras ou R\$ 400 milhões extras (~US\$ 123 milhão). Além disso, desde o desmame até o abate, os bezerros com TAI ganham 15 kg adicionais de carcaça, gerando R\$ 482,2 milhões (~US\$ 149 milhões). Assim, TAI agrega à cadeia da carne bovina cerca de R\$ 1,7 bilhões (mais de meio bilhão de US\$) por ano (BARUSELLI, 2016), demonstrando assim a melhora na produção bem como o aumento da margem de ganho econômico.

O uso da IA tem muitas vantagens em diferentes âmbitos, como o econômico, zootécnico, social e sanitárias que estão exibidas na Tabela 2 (PEGORARO; SAALFELD; PRADIEÉ, 2016).

Tabela 2 - Levantamento de vantagens e desvantagens da inseminação artificial em bovinos

ÂMBITO	VANTAGENS	DESvantagens
Zootécnico	Sêmen de um só ejaculado em centenas de vacas	Exige pessoal habilitado e equipamentos especiais.
	Correções de defeitos de úbere e tetos	Aumenta a disseminação de fatores genéticos indesejáveis, quando os defeitos de um reprodutor não são bem conhecidos.
	Implantar programas de cruzamentos com maior facilidade.	
	Reduzir os períodos de serviço,	
	Utilização de sêmen de reprodutor que já tenha morrido.	
Produção constante de leite devido o planejamento dos nascimentos.		
Sanitários	Exclui-se possibilidade do touro adquirir ou transmitir enfermidades infecto-contagiosas devido ao uso de material descartável.	Quando há negligência no uso da técnica de IA, pode provocar lesões e infecções no aparelho genital da fêmea, bem como facilitar a propagação de certas doenças no rebanho.
	Exames prévios para detecção de doenças.	
Econômico	Uso de sêmen de reprodutores de alto valor zootécnico.	Pode ter custo elevado para o produtor
	Sem custos de aquisição e manutenção do animal.	
	Possibilidade de se arrendar touros para centrais de inseminação artificial, com participação na comercialização do sêmen.	
Social	O produtor rural passa a ser qualificado.	Pode ter conflitos ético associados
	Experiência para enfrentar eventuais obstáculos em sua nova atividade profissional.	

Fonte: Adaptado de Pegoraro; Saalfeld; Pradieé (2016)

4.6 Inovações da inseminação artificial bovina

Embora a IA seja uma biotecnologia reprodutiva antiga, sua ampla implementação é muito recente e se deve principalmente ao uso de protocolos que permitem a IA sem detecção de estro, comumente chamados de inseminação artificial em tempo fixo (TAI). O desenvolvimento de protocolos de TAI também permitiu a aplicação de IA em rebanhos maiores e extensivamente manejados e principalmente em vacas lactantes, ao invés de restringir os programas de reprodução às novilha (GA; BARUSELLI et al., 2014).

O uso de estradiol e progesterona têm sido amplamente utilizados nos últimos anos para a sincronização de estro em bovinos de corte (BARUSELLI et al., 2004) e são os tratamentos preferenciais para TAI de bovinos de corte na América do Sul. Os tratamentos consistem na inserção de um agente liberador de progestágeno e a administração de 2 mg de benzoato de estradiol (EB) no Dia 0 (para induzir atresia folicular e sincronizar emergência da onda folicular). Na hora da remoção do dispositivo de progesterona é adicionado prostaglandina F₂α (PGF) nos dias 7, 8 ou 9 (para garantir luteólise) e com posterior aplicação de 1 mg EB 24 h mais tarde ou hormônio liberador de gonadotrofina/hormônio luteinizante (GnRH/LH) após 54 h para sincronizar a ovulação (BÓ et al. 2002; MARTINEZ et al., 2002).

Mais recentemente, o tratamento foi ainda mais simplificado pela substituição da segunda aplicação de EB 24h após a remoção do dispositivo por 0,5 ou 1 mg de cipionato de estradiol administrado no momento da remoção do dispositivo de progestágeno, sem afetar as taxas de gravidez (COLAZO et al., 2003; BÓ et al., 2013).

Portanto, tendo a sincronização do estro é possível que mais vacas possam ser emprenhadas no início da estação de monta para melhoramento genético touros, resultando em maiores pesos à desmama. Cinquenta por cento das vacas poderiam potencialmente engravidar no primeiro dia da estação reprodutiva e resultar em um maior número de vacas parindo no início do a estação do parto. Portanto, seus bezerros serão mais velhos e mais pesados no desmame. Além disso, o uso de genes geneticamente superiores touros também resultarão em bezerros mais pesados ao desmame (GA; BARUSELLI, 2014). Abaixo o quadro 1 aponta as principais vantagens do uso da inseminação artificial de tempo fixo:

Quadro 1: Vantagens da Inseminação Artificial de Tempo Fixo

VANTAGENS DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL DE TEMPO FIXO
Eliminação da detecção de cio
Inseminação das matrizes a partir de 60 dias após o parto
Indução da ciclicidade em vacas em anestro
Número de intervalos de partos reduzidos
Frequência da fêmea estar prenha aumentada no início da época de monta.
Acompanhamento reprodutivo das matrizes, fazendo o controle e o descarte das que forem improdutivas.
Poder ter o dia e hora exato para aplicar a técnica.
Realizar a padronização dos lotes de bezerros.
Diminuição do período de estação reprodutiva para 3 meses.
Diminuição de touros de repasse no rebanho.
Simplificar a mão de obra, aperfeiçoando os funcionários ou contratando funcionários temporários para somente o período da IATF.

Fonte: Ga; Baruselli, 2014

O uso da edição genômica é uma das tecnologias revolucionárias da atualidade para a IA, um estudo foi capaz de produzir gado leiteiro sem chifres a partir de células editadas pelo genoma. Isso foi realizado porque a maioria das raças leiteiras apresentam chifres que é uma característica dominante geneticamente, o que dificulta a seleção. Por isso é feita a descornagem com o intuito de proteger os animais e produtores de ferimentos acidentais, que não é apenas cara, mas também dolorosa para os animais e está sob escrutínio devido a preocupações públicas sobre o bem-estar dos animais de fazenda. Para tornar a produção de animais sem chifres facilmente por IA foi feito o uso da edição do genoma usando nucleases efetoras do tipo ativador de transcrição (TALENs) para introgridir o alelo P C *POLLED* putativo no genoma de fibroblastos de embriões bovinos para tentar produzir um genótipo idêntico ao que é alcançável usando o acasalamento natural, mas sem o arrastamento e mistura genética concomitante (CARLSON et al., 2016).

Outra inovação nessa área é o uso de marcadores genéticos. Esses marcadores além de verificar os touros jovens de irmãos inteiros que recebiam a maior quantidade de genes dos seus pais, fazem a avaliação das características qualitativas dos genes recessivos deletérios (BLAD-Deficiente adesão dos leucócitos bovinos) e (CVC-Complexo de malformação vertebral), sendo que esses genes pertencem ao gado Holandês, e os touros jovens que possuem esses genes estarão eliminados da progênie (FUNK, 2006).

. A utilização de sêmen sexado em fazendas leiteiras e de corte garante a produção de animais do sexo desejado, resultando em redução de custos e melhoria da sustentabilidade ambiental. A sexagem de espermatozoide atualmente vem sendo feita por diferentes técnicas bem inovadoras (QUELHAS et al., 2021).

Na pecuária leiteira, a triagem de sêmen pode superar a produção excedente de bezerras machos indesejados que, como subproduto indesejado da reprodução com sêmen convencional, têm baixo valor econômico (HOLDEN; BUTLER, 2018). Na pecuária de corte há uma necessidade urgente de melhorar o rendimento da produção, o que pode ser feito com a criação de mais novilhas de vacas de alta qualidade, resultando em reposição superior de fêmeas e doadoras (HALL; GLAZE, 2014). Em última análise, a disponibilidade de sêmen sexado permitiria a seleção dos melhores touros e vacas (HOLDEN; BUTLER, 2018).

Várias características permitem distinguir o esperma X do Y: (a) o conteúdo de DNA (o esperma X contém mais DNA do que o esperma Y); (b) o tamanho (o esperma X é maior que o esperma Y); (c) a carga na superfície da célula (o esperma X tem carga negativa e o esperma Y tem carga positiva) e (iv) o padrão de motilidade (o esperma X tem menor motilidade do que o esperma Y). Os antígenos de superfície também são diferentes entre os espermatozoides X e Y (CUI, 1997 ; GARNER; SEIDEL, 2008 ; YADAV et al., 2017). Com base nessas características distintivas, vários métodos de sexagem foram desenvolvidos.

As primeiras técnicas para a sexagem foram com base no tamanho e na cinética dos espermatozoides. Com essas técnicas assumem que o esperma Y tem menos DNA, é menor, tem maior motilidade e menos densidade do que o esperma X.

Em particular, a técnica de centrifugação gradiente Percoll[®] permite a separação de espermatozoides X e Y com base na diferença em sua densidade (KANEKO et al., 1983). O método do gradiente de albumina é baseado nas diferenças na motilidade espermática em soluções de albumina de soro bovino de várias

concentrações (ERICSSON et al., 1973). As diferenças na velocidade de natação entre os espermatozoides X e Y também foram usadas para a seleção do sexo dos espermatozoides por meio de um método chamado swim-up (HAN et al., 1993). Finalmente, as colunas Sephadex restringiram a difusão das células por uma certa porosidade, permitindo a separação dos espermatozoides X e Y com base em suas diferenças de tamanho (STEENO et al., 1975).

Outra técnica de sexagem sendo a mais aplicada industrialmente é a separação individual de espermatozoides com cromossomos X e Y usando citometria de fluxo - classificação de células ativadas por fluorescência (FACS) (GARNER et al., 2013). Nesse método, as células espermáticas são expostas a um corante fluorescente (Hoechst 33342) que se liga ao DNA intacto e são analisadas por citometria de fluxo (MOORE; HASLER, 2017). Como o esperma bovino portador do X contém cerca de 4% a mais de DNA do que o esperma Y, ele emite uma fluorescência mais brilhante, permitindo a diferenciação das duas subpopulações (MOORE; HASLER, 2017).

Outra tecnologia é o uso de métodos imunológicos para sexagem de esperma, com base em diferenças na expressão de proteínas de esperma X e Y (KATIGBAK et al., 2019 ; YADAV et al., 2017). Algumas proteínas altamente expressas nos espermatozoides femininos são: proteína 2 contendo o domínio (UNDC2), acetil-CoA carboxilase tipo beta (F1MSC3), NADH desidrogenase [ubiquinona] ferro-enxofre proteína 7 mitocondrial (P42026), proteína plasmática seminal (P02784) gliceraldeído 3 fosfato desidrogenase (P10096). Alguns exemplos de proteínas expressas em espermatozoides masculinos: proteína 1 contendo o domínio EF-hand (E1BKH1), dineína cadeia intermediária 2, axonemal (E1BPM9) e componente X da proteína piruvato desidrogenase (P22439) (QUELHAS et al., 2021). Com base nessas diferenças é possível determinar qual cromossomo pertence ao espermatozoide.

Portanto, essas tecnologias permitem maior eficiência na produção de gados por inseminação artificial, garantindo o sexo desejado e a qualidade genética da prole.

5. CONCLUSÃO

Com essa revisão podemos concluir um grande avanço no conhecimento, principalmente no século 20, na qual diferentes tecnologias foram criadas para o aprimoramento da inseminação artificial. No Brasil podemos ver um grande avanço também, principalmente no uso da IA em tempo fixo que é a abordagem mais utilizada nos últimos tempos. Além disso, o Brasil é o segundo maior produtor de carne bovina no mundo e o uso da IA demonstrou ajudar muito nesse cenário, porém no Brasil ainda há muito o que avançar, principalmente no que diz respeito a ampliação do número de produtores para aderir às técnicas. Em termos de vantagens e desvantagens a IA apresenta maiores vantagens do que desvantagens por melhorar significativamente aspectos zootécnicos, sociais e econômicos associados à produção animal. Em termos de tecnologias inovadoras, mais e mais técnicas estão surgindo a fim de tornar a produção animal mais eficiente com seleção de gados de melhor corte e de vacas com melhor produtividade leiteira. Portanto essa revisão mostrou de forma geral e cronológica o avanço da inseminação artificial no mundo e no Brasil sendo de grande valia para estudos de embasamento científico e histórico da inseminação artificial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne. Estatísticas: balanço da pecuária. São Paulo, SP: **ABIEC**. pp. 19, 2014
- BAILEY, J. L. Factors regulating sperm capacitation. **Systems Biology in Reproductive Medicine**, v. 56, n. 5, p. 334-348, 2010.
- BARUSELLI, P. S. IATF supera dez milhões de procedimentos e amplia o mercado de trabalho. **Rev CFMV**, v. 69, p. 57-60, 2016.
- BARUSELLI, P. S. et al. Timed artificial insemination: Current challenges and recent advances in reproductive efficiency in beef and dairy herds in Brazil. **Animal Reproduction**, v. 14, n. 3, p. 558-571, 2017.
- BARUSELLI, P. S. 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**, v. 15, n. 3, p. 247-255, 2018.
- BARUSELLI, P. S. et al. Challenges to increase the AI and ET markets in Brazil. **Animal Reproduction**, v. 16, n. 3, p. 364-375, 2019.
- BÓ, G. A. et al. Technologies for fixed-time artificial insemination and their influence on reproductive performance of *Bos indicus* cattle. **Society of Reproduction and Fertility supplement**, v. 64, n. Chenoweth, p. 223-236, 2007.
- BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S. Synchronization of ovulation and fixed-time artificial insemination in beef cattle. **Animal**, v. 8, n. SUPPL. 1, p. 144-150, 2014.
- BOETTCHER, P. J.; PERERA, B. M. A. O. Improving the reproductive management of smallholder dairy cattle and the effectiveness of artificial insemination: a summary. **Reproductive Management of Dairy Cattle Subjected to Artificial Insemination**, p. 1, 2007.
- CARLSON, D. F. et al. Production of hornless dairy cattle from genome-edited cell lines. **Nature Biotechnology**, v. 34, n. 5, p. 479-481, 2016.
- CIBELLI, J. B. et al. Cibelli1998. v. 280, n. May, p. 280-282, 1998.
- COLAZO, M. G.; KASTELIC, J. P.; MAPLETOFT, R. J. Effects of estradiol cypionate (ECP) on ovarian follicular dynamics, synchrony of ovulation, and fertility in CIDR-based, fixed-time AI programs in beef heifers. **Theriogenology**, v. 60, n. 5, p. 855-865, 2003.
- CRAN, D. G. et al. Production of bovine calves following separation of X- and Y-chromosome bearing sperm and in vitro fertilisation. **The Veterinary record**, v. 132, n. 2, p. 40-41, 1993.

CUI, K. H. Size differences between human X and Y spermatozoa and prefertilization diagnosis. **Molecular Human Reproduction**, v. 3, n. 1, p. 61-67, 1997.

ERICSSON, R. J.; LAUNGEVIN, C. N.; NISHINO, M. Isolation of Fraction rich in Human Y Sperm. **Nature**, v. 241, p. 20, 1973.

FUNK, D. A. Major advances in globalization and consolidation of the artificial insemination industry. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 4, p. 1362-1368, 2006.

GARNER, D. L. et al. Quantification of the X- and Y-chromosome-bearing spermatozoa of domestic animals by flow cytometry. **Biology of Reproduction**, v. 28, n. 2, p. 312-321, 1983.

GARNER, D. L.; EVANS, K. M.; SEIDEL, G. E. Chapter 26 Sex-Sorting Sperm Using Flow Cytometry / **Cell Sorting**. v. 927, p. 279-295, 2013.

GILCHRIST, R. B.; THOMPSON, J. G. Oocyte maturation: Emerging concepts and technologies to improve developmental potential in vitro. **Theriogenology**, v. 67, n. 1, p. 6-15, 2007.

HALL, J. B.; GLAZE, J. B. Review: System application of sexed semen in beef cattle. **Professional Animal Scientist**, v. 30, n. 3, p. 279-284, 2014.

HASLER, J. F. Forty years of embryo transfer in cattle: A review focusing on the journal *Theriogenology*, the growth of the industry in North America, and personal reminiscences. **Theriogenology**, v. 81, n. 1, p. 152-169, 2014.

HOLDEN, S. A.; BUTLER, S. T. Review: Applications and benefits of sexed semen in dairy and beef herds. **Animal**, v. 12, n. s1, p. s97-s103, 2018.

IVANOFF, E. I. On the use of artificial insemination for zootechnical purposes in Russia. **The Journal of Agricultural Science**, v. 12, n. 3, p. 244-256, 1922.

JOHNSON, L. A.; FLOOK, J. P.; HAWK, W. Biology of reproduction. **Theriogenology**, 41, 199-203 (1989). v. 203, p. 199-203, 1989

KANEKO, S. et al. Separation of human X- and Y-bearing sperm using Percoll density gradient centrifugation. **Fertility and Sterility**, v. 40, n. 5, p. 661-665, 1983.

KASINATHAN, P. et al. Acceleration of genetic gain in cattle by reduction of generation interval. **Scientific Reports**, v. 5, p. 5-8, 2015.

LEONI, G. et al. Sheep embryos derived from FSH/eCG treatment have a lower in vitro viability after vitrification than those derived from FSH treatment. **Reproduction Nutrition Development**, v. 41, n. 3, p. 239-246, 2001.

- LIU, X. et al. Generation of mastitis resistance in cows by targeting human lysozyme gene to β -casein locus using zinc-finger nucleases. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 281, n. 1780, 2014.
- LONERGAN, P. Review: Historical and futuristic developments in bovine semen technology. **Animal**, v. 12, n. s1, p. s4-s18, 2018.
- MACIEL, G. S. et al. Ovarian Superstimulation Treatment for Multiple Ovulation and Embryo Transfer Programs in Sheep. **Investigação**, v. 16, n. 8, p. 30-36, 2017.
- MANAFI, M. ed. Artificial insemination in farm animals. **BoD-Books on Demand**, 2011.
- MARTÍNEZ, M. F. et al. The use of progestins in regimens for fixed-time artificial insemination in beef cattle. **Theriogenology**, v. 57, n. 3, p. 1049-1059, 2002.
- MIES FILHO, A. Inseminação artificial. 6 ed. **Porto Alegre: Sulina**, v.2., 1987.
- MOORE, S. G.; HASLER, J. F. A 100-Year Review: Reproductive technologies in dairy science. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 12, p. 10314-10331, 2017.
- MORRELL, J. M.; WALLGREN, M. Alternatives to antibiotics in semen extenders: A review. **Pathogens**, v. 3, n. 4, p. 934-946, 2014.
- NORDIN, Y.; ZAINI, N.; WAN ZAHARI, W. M. Reproductive Status Following Artificial Insemination and Factors Affecting Conception Rate in Dairy Cows in Smallholder Production Systems. **Improving the Reproductive Management of Dairy Cattle Subjected to Artificial Insemination**, n. May, p. 79-91, 2007.
- STEENO, O.; ADIMOELJA, A.; STEENO, J. Separation of X- and Y-bearing human spermatozoa with the sephadex gel-filtration method. **Andrologia**, v. 7, n. 2, p. 95-97, 1975
- PEGORARO, L. M. C.; SAALFELD, M. H.; PRADIEÉ, J. Inseminação Artificial em Bovinos. **EMBRAPA**, v. 1, p. 48, 2016.
- PERRY, E. J. The Artificial Insemination of Farm Animals Rutgers University Press, **New Brunswick, NJ**, p. 260, 1945.
- POLGE, C.; ROWSON, L. E.A. Fertilizing capacity of bull spermatozoa after freezing at -79°C . **Nature**, v. 169, p. 626-627, 1952.
- PRATHER, R. S. et al. Nuclear transplantation in the bovine embryo: assessment of donor nuclei and recipient oocyte. **Biology of reproduction**, v. 37, n. 4, p. 859-866, 1987.

QUELHAS, J. et al. Bovine semen sexing: Sperm membrane proteomics as candidates for immunological selection of X- and Y-chromosome-bearing sperm. **Veterinary Medicine and Science**, v. 7, n. 5, p. 1633-1641, 2021.

RAHMAN, M. R. Follicle Stimulating Hormone (FSH) Dosage Based on Body Weight. v. 27, n. 9, p. 1270-1275, 2014.

ROCHA, U. F. Controle da fecundidade em 154 vacas zebu, portadoras de brucelose. Comparação entre cobertura natural e inseminação artificial. **Rev Fac Med Vet USP**, v.3, p.327-330, 1948.

RODRIGUES, J. L.; RODRIGUES, B. A. Evolução da biotecnologia da reprodução no Brasil e seu papel no melhoramento genético. **Rev Ceres**, v.56, p.428-436, 2009.

SARTORI, R. et al. Metabolic and endocrine differences between *Bos taurus* and *Bos indicus* females that impact the interaction of nutrition with reproduction. **Theriogenology**, v. 86, n. 1, p. 32-40, 2016a.

SARTORI, R. et al. Update and overview on assisted reproductive technologies (ARTs) in Brazil. **Animal Reproduction**, v. 13, n. 3, p. 300-312, 2016.

SILVA, E. I. C. DA. REPRODUÇÃO ANIMAL: INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL ANIMAL BREEDING: ARTIFICIAL INSEMINATION. n. 82, 2020

THIBIER, M.; WAGNER, H. G. World statistics for artificial insemination in cattle. **Livestock Production Science**, v. 74, n. 2, p. 203-212, 2002.

TIE LAN HAN et al. Detection of X- and Y-bearing human spermatozoa after motile sperm isolation by swim-up. **Fertility and Sterility**, v. 60, n. 6, p. 1046-1051, 1993.

VIANA, J. H. M.; FIGUEIREDO, A. C. S.; SIQUEIRA, L. G. B. Brazilian embryo industry in context: Pitfalls, lessons, and expectations for the future. **Animal Reproduction**, v. 14, n. 3, p. 476-481, 2017.

VIEIRA, J. G. Inseminação artificial em galinhas. **Rev Ind Anim**, v.2, p.151-165, 1939.

VISHWANATH, R. Artificial insemination: The state of the art. **Theriogenology**, v. 59, n. 2, p. 571-584, 2003.

WILLADSEN, S. M. A method for culture of micromanipulated sheep embryos and its use to produce monozygotic twins. **Nature**, v. 13, 1979.

WILLADSEN, S. M. Nuclear transplantation in sheep embryos. **Nature**, v. 320, n. 6057, p. 63-65, 1986.

WILMUT, I. et al. Erratum: Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. **Nature**, v. 386, n. 6621, p. 200, 1997.

YADAV, S. K. et al. An immunological approach of sperm sexing and different methods for identification of X- and Y-chromosome bearing sperm. **Veterinary World**, v. 10, n. 5, p. 498-504, 2017.

BORGES, M. S.; NASCIMENTO, V. A.;
DIAS, M.; DIAS, F. J. S. A INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM BOVINOS DE CORTE NO BRASIL. ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer, v.19, n.42, p. 23, 2022.