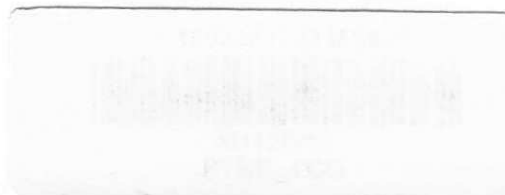


UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

**INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM JUMENTAS NORDESTINAS NO
SEMIARIDO PARAIBANO**

Pedro Vinícius Victor Vitorino



2013



Universidade Federal
de Campina Grande

**CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

MONOGRAFIA

**INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM JUMENTAS NORDESTINAS NO
SEMIARIDO PARAIBANO**

Pedro Vinícius Victor Vitorino

Graduando

Prof. Carlos Enrique Peña Alfaro

Orientador

Patos

Junho de 2013





Biblioteca Setorial do CDSA. Junho de 2022.

Sumé - PB



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE

CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM JUMENTAS NORDESTINAS NO SEMIARIDO PARAIBANO

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSTR

V845i

Vitorino, Pedro Vinicius Victor

Inseminação artificial em jumentas nordestinas no semiarido paraibano/ Pedro Vinicius Victor Vitorino. – Patos, 2013.

25 f.: il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural.

“Orientação: Prof. Dr. Carlos Enrique Peña Alfaro”

Referências.

1. Asininos. 2. Semi-árido. 3. Inseminação artificial.

I. Título.

CDU 636.082

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

PEDRO VONÍCIUS VICTOR VITORINO
Graduando

Monografia submetida à Universidade Federal de Campina Grande como requisito parcial para obtenção de grau de Médico Veterinário.

APROVADO EM / /

MÉDIA: 10,00

BANCA EXAMINADORA




Prof. Dr. Carlos Enrique Peña Alfaro
Orientador

Nota: 10,00



Prof. Dra. Norma Lúcia Souza Araújo

Nota: 10,00

Examinador I


Dra. Vera Lúcia de Lima Torres
Examinador II

Nota: 10,00

À

Maria do Socorro Victor Vitorino

Por ser o meu suporte em tudo em minha vida

DEDICO

Ao meu pai

Damião Pereira Vitorino

Aos meus irmãos

Eulália e Paulo e (Vinícius in memoriam).

Ao meu cunhado Carlos e ao meu sobrinho

Vinícius.

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao ser que rege as leis do universo com a sua maestria e simplicidade.

À minha família, que sempre me apoio e incentivou na minha formação intelectual e pessoal;

Aos meus avós materno e paterno;

A todos os meus tios e tias, primos e primas;

A minha querida e amada namorada Aline Andrade por ter me suportado e ter sido a minha companheira, amiga durante a minha jornada;

Ao professor Carlos Enrique Peña Alfaro, pela amizade e orientação nesta monografia;

Aos membros da Banca Examinadora, Prof^a Norma Lúcia de Souza Araújo e Dr. Vera Lúcia de Lima Torres, pela disponibilidade da participação e pelas valiosas contribuições;

A todos os meus colegas ao decorrer do curso;

Aos professores e funcionários do curso de medicina veterinária, amigos esses que foram essenciais para a minha formação;

Aos meus amigos da Escola Técnica;

A todos meus amigos de residência;

A todos aqueles que contribuíram durante a minha jornada seja ela de forma direta e indireta. Na qual não irei citar nomes, pois não quero cometer injustiça ao esquecer alguém;

A todos as pessoas que me deram carona durante as minhas idas e vindas de Patos para casa e de casa para Patos. Que confiaram mesmo nos dias de hoje com todos os riscos por estar dando carona a um desconhecido;

A todas as pessoas que não acreditaram em mim, pois foi o que mais motivou a vencer a todas as dificuldades enfrentadas para mostrar a minha capacidade e teimosia em mostrar que eu venci.

SUMÁRIO

| | Pág. |
|--|-------------|
| 1. INTRODUÇÃO..... | 11 |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA..... | 12 |
| 3. METODOLOGIA..... | 15 |
| 3.1. Local do Experimento..... | 15 |
| 3.2. Coleta do sêmen..... | 15 |
| 3.3. Avaliação e diluição do sêmen do sêmen..... | 15 |
| 3.4. Inseminação Artificial..... | 17 |
| 3.5. Diagnostico de Gestação..... | 17 |
| 3.6. Análise estatística..... | 17 |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 17 |
| 5. CONCLUSÃO..... | 20 |
| REFERÊNCIAS..... | 21 |

LISTA DE FIGURAS

| | Pág. |
|--|------|
| Figura 1- Coleta de sêmen com vagina artificial..... | 15 |
| Figura 2- Avaliação do sêmen diluído com o diluente de Kenney..... | 16 |
| Figura 3- Vesícula embrionária de jumenta com 35 dias após a inseminação artificial..... | 18 |

LISTA DE TABELAS

Pág.

| | |
|---|----|
| Tabela 1 - Fertilidade de jumentas inseminadas com sêmen diluído em diluente comercial de Kenney, usando diferentes doses de HCG..... | 17 |
|---|----|

RESUMO

VITORINO, P. V. V. Inseminação Artificial em Jumentas no Semiárido Paraibano [Artificial insemination in donkeys in the semi-arid region of Paraíba State].2013. 23f. Monografia (Medicina Veterinária) – Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande.

Objetivou-se com esta pesquisa avaliar e comparar a viabilidade do sêmen de jumento nordestino usando o diluidor a base de leite em pó desnatado (Kenney,1975), resfriado a temperatura de 5 °C em jumentas submetidas a dois tratamentos de indução da ovulação. Os ejaculados foram provenientes de dois jumentos. Os parâmetros seminais foram avaliados de forma convencional, Foram utilizadas 10 jumentas, divididas em dois grupos, ambos inseminados usando leite em pó desnatado (Kenney,1975).Grupo1: com uso do hormônio gonadotrófico coriônico(HCG), 1500 UI e no grupo 2: com uso de 2500 UI de HCG. O diagnóstico de gestação foi realizado pela ultrassonografia usando aparelho marca Chison, modelo D-600 Vet, com transdutor linear transretal e frequência de 5MHz, após 16 dias da data da inseminação, e caso positivo, repetido aos 45 dias pós inseminação para o diagnóstico de eventual reabsorção embrionária. O uso de 2500 UI propiciou uma taxa de gestação de 50%, contra 0% no uso de 1500 UI. Recomendando o uso de 2500 UI na indução da ovulação em jumentas nordestinas.

Palavra chave: Asininos. Semiárido. Inseminação Artificial.

ABSTRACT

VITORINO, P. V. V. Artificial insemination of donkeys in the semiarid region [Inseminação Artificial em Jumentas no Semiarido Paraibano], 2013. 23f. Monografia (Medicina Veterinária) – Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande.

The objective of this research was to evaluate and compare the use of donkey semen using the thinner the milk powder (Kenney, 1975), cold temperature of 5 ° C in asses subjected to two treatments for ovulation induction. The samples were from two donkeys. The semen parameters were evaluated in a conventional way, 10 donkeys were used, divided into two groups, both inseminated using skimmed milk powder (Kenney, 1975). Group 1: using human chorionic gonadotropin (HCG) 1500 IU and group 2 : using 2500 IU of HCG. Pregnancy diagnosis was performed by ultrasonography using Chison device brand, model D-600 Vet with transrectal linear transducer and frequency of 5MHz, 16 days after the date of insemination, and if so, repeated at 45 days post insemination for the diagnosis of eventual embryonic death. The use of 2500 IU provided a pregnancy rate of 50% compared to 0% in the use of 1500 IU. Recommending the use of 2500 IU in the induction of ovulation in northeastern asses.

Keyword: Donkeys. Semiarid. Artificial Insemination

1. INTRODUÇÃO

O efetivo de asininos no Brasil é cerca de 1 001 587, o estado da Paraíba encontra-se em sétimo lugar no “ranking” nacional, com o total de 43 716 cabeças de jumentos (IBGE 2010).

Em vários lugares do mundo a espécie asinina é utilizada para produção de muares, em regiões como Ásia e Europa é usada na produção de leite e carnes salgadas. Na região Nordeste tem desempenhado importante papel junto a sua população, servindo para tração e transporte.

No Brasil existem poucos estudos sobre as biotecnologias reprodutivas dos asininos. Por pertencerem a mesma família dos equinos, a família “Equidae”, muitos acreditam que o comportamento reprodutivo dos asininos são similares aos equinos, como de fato isto não procede, é conveniente que se conheça a espécie para que se possa melhorar a sua eficiência reprodutiva, incorporando ao máximo no manejo de criação controlada as características inerentes à espécie. Agindo dessa maneira, estamos respeitando a sua forma de viver e, conseqüentemente, melhorando o seu bem-estar e sua produtividade.

Para que ocorra um melhor aproveitamento do uso das técnicas de reprodução assistida nos asininos, necessita-se de conhecimentos sobre sua fisiologia reprodutiva e comportamento sexual, por isso se faz necessário o despertar de mais pesquisas relacionadas a essa espécie.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar e comparar a eficiência da inseminação artificial utilizando sêmen de jumentos diluído com diluente de leite em pó desnatado (Kenney,1995) , ambos refrigerados a temperatura de 5°C, associado ao uso de hCG em doses de 1500e 2500 UI.

2. REVISÃO DE LITERATURA

O uso de biotecnologias da reprodução vem sendo cada vez mais utilizado nas espécies equina e asinina, com resultados variados quanto a fertilidade. Um dos pontos de maior importância no uso dessas técnicas consiste no uso adequado de diluentes capazes de manter as características seminais (PENA-ALFARO, 2010).

O animal, deve estar condicionado a saltar em uma égua devidamente contida ou em um manequim. Para que poça ser realizada a coleta utilizando vagina artificial.

O modelo de vagina artificial Botucatu apresenta tubo rígido, mucosa de latex, mucosa plástica, anéis de latex, camisa interna, copo coletor e tampa. Esta, após montada, deve ser preenchida com água a temperatura de 42-45°C. Durante o salto, o pênis é desviado e introduzido na vagina artificial (PAPA et al., 2007).

Os diluidores de sêmen são soluções destinadas a proteger os espermatozoides de condições desfavoráveis e prolongar sua sobrevivência durante a refrigeração e o transporte, além de apresentarem a vantagem de aumentar o volume da dose inseminante e auxiliarem na análise do sêmen (PICKETT e SHINER, 1994; BALL, 1998b; DARENIUS, 1998).

O sêmen diluído tem como vantagens o tratamento antibiótico, diminuindo a contaminação bacteriana deste; diluição de fatores tóxicos presentes no plasma seminal; melhora da fertilidade do sêmen devido ao aporte de nutrientes contidos no diluidor; maior flexibilidade de inseminação, onde o sêmen depois de diluído, dependendo da situação, pode ser transportado em curtas distâncias sem necessidade de resfriamento, entre haras próximos e, se devidamente protegido dos raios solares até uma hora, sem prejuízo da fertilidade; e a possibilidade do fracionamento para maior número de éguas pela expansão do volume diluidor mais o sêmen (SQUIRES et al., 1998).

Os diluidores mais utilizados para sêmen equino em todo o mundo, assim como no Brasil, são derivados do diluente de Kenney et al. (1975), que é à base de leite em pó desnatado, glicose, penicilina e estreptomicina. Pode haver diluidores derivados deste meio, com adição de diferentes tipos de constituintes como: antibióticos, açúcares, gema de ovo, aminoácidos, e outras substâncias com propriedades favoráveis ao sêmen, sendo que os tipos de diluidores variam de acordo com o país do mundo (SAMPER, 2007).

A utilização de sêmen diluído e resfriado implicam em maior flexibilidade de manejo de controle folicular, momento e local de deposição do sêmen. Pelo contrário, sêmen congelado exige um manejo mais rígido, palpções retais mais frequentes e, quanto ao local de deposição, preferencialmente, o mais profundo no corno uterino ipsilateral à ovulação (SAMPER; ESTRADA; MCKINNON, 2007).

Uma das causas do aumento do uso do sêmen resfriado é a alta proporção de garanhões (20-40%) que possuem resposta pobre ao congelamento (VIDAMENT et al., 1997). De qualquer forma a tecnologia de sêmen resfriado se torna interessante quando o sêmen é capaz de manter sua capacidade fertilizante por 1 a 2 dias.

MELLO et al. (2000) utilizando o sêmen de cinco jumentos, das raças Nordestina e Pêga, de três a oito anos de idade. Verificaram que o sêmen diluído utilizando-se apenas a fração rica do ejaculado ou o ejaculado total coletado, visando observar a influência do plasma seminal no resfriamento. Para a diluição do sêmen, nas duas formas, utilizou-se diluidores à base de leite.

VIDAMENT et al. (2005) avaliando a fertilidade do sêmen resfriado e centrifugado com retirada do plasma seminal e diluição com diluente a base de gema de ovo (INRA82-Y), e com 400×10^6 espermatozoides/dose inseminante observaram uma taxa de concepção/ciclo de 63% (12/19).

ALVAREZ et al. (2004) observou que a centrifugação do sêmen não foi benéfica para a fertilidade de asininos. Doses foram preparadas para as inseminações, envolvendo a retirada ou não do plasma seminal, sendo o sêmen diluído em diluidor de leite desnatado, com 1×10^9 de células espermáticas/dose em um volume de 10 ou 20ml. A seguir, foram resfriadas a 15°C, e utilizadas em um período de até 24 horas decorridas da coleta. A taxa de concepção/ciclo, para as jumentas, foi de 26% e a fertilidade por estação de 41% para o sêmen resfriado. Taxas de concepção foram melhores quando o sêmen não foi centrifugado (27% vs 21%). Para a monta natural, a taxa de concepção por estação de monta foi de 71%.

Nas diferentes espécies domésticas a inseminação artificial (IA), entre as diferentes biotecnologias empregadas atualmente é a que demonstra a maior viabilidade econômica e facilidade de implantação (WEISS et al, 2003).

Na técnica de inseminação artificial se faz necessário o acompanhamento ultrassonográfico pra avaliar tanto a dinâmica folicular como a ecotextura uterina, resultantes das modificações do quadro hormonal durante o ciclo estral em asininos, assim como nos equinos (ALFARO et al., 2012).

Uma vez dentro do útero, os espermatozoides migram ao oviduto onde se ligam à parede e ficam armazenados como num reservatório, e são liberados gradualmente do epitélio para o lúmen do oviduto. A viabilidade dos espermatozoides no trato reprodutivo da fêmea varia de acordo com o tipo de sêmen utilizado (fresco, resfriado ou congelado). Isto é o que determina a hora mais adequada para a inseminação (DAELS, 2003).

Se não ocorrer a ovulação até 24 horas após a IA, deve-se realizar uma nova inseminação, pois o sêmen resfriado tem sua viabilidade dentro do trato reprodutivo da égua por 24 horas. Quando é utilizado sêmen refrigerado o indicado é fazer a inseminação dentro de 24 horas depois do resfriamento do sêmen, pois se for mantido por mais horas ocorre queda na fertilidade. (PAPA et al., 2007).

3. METODOLOGIA

3.1. Local do Experimento

O experimento foi realizado no Laboratório de Reprodução Animal do Hospital Veterinário do CSTR/UFCG/Campus de Patos. Utilizou-se sêmen de dois reprodutores asininos, conhecidamente férteis (confirmada através de histórico reprodutivo e exame andrológico), sem padrão de raça definida (SPRD) com idade variando entre 4 e 10 anos de idade e dois lotes de cinco fêmeas asininas, conhecidamente férteis (confirmada através de histórico reprodutivo e exame ginecológico), sem padrão de raça definida (SPRD) com idade variando entre 4 a 10 anos.

3.2. Coleta do sêmen

O sêmen foi coletado por meio de vagina artificial, utilizando jumentas devidamente contidas.



Figura 1- Coleta de sêmen com vagina artificial. Fonte: Arquivo pessoal

3.3. Avaliação e diluição do sêmen do sêmen

Imediatamente após a coleta, as amostras de sêmen foram encaminhadas ao laboratório e posteriormente avaliadas quanto às características macroscópicas (volume, cor e aspecto) e microscópicas (motilidade individual progressiva, vigor e morfologia espermática).

A motilidade progressiva e vigor foram determinadas pela deposição de uma gota de sêmen entre lâmina e lamínula pré-aquecidas a 37°C. A motilidade progressiva foi determinada pela porcentagem de espermatozoides com movimento progressivo, variando de 0 a 100% e o vigor foi avaliado com base na qualidade do movimento retilíneo-progressivo e sua velocidade, em uma escala de 1 a 5. Ambas as avaliações foram realizadas sob microscopia óptica de contraste de fase em aumento de 100x.

A avaliação da morfologia espermática foi procedida com a contagem de 200 espermatozoides, analisando-se as alterações de forma e estrutura e classificando-as em Defeitos Maiores: defeitos de acrossomo (destacado, *knobbed*, lesado); presença de gota protoplasmática proximal; defeitos de cabeça: (subdesenvolvida, isolada patológica, estreita na base, piriforme, pequena anormal, contorno anormal, *pouch formation*, cauda enrolada na cabeça); presença de formas teratológicas; defeitos de peça intermediária (fibrilação, fratura total e parcial, edema, pseudogota); defeitos de cauda (fortemente dobrada ou enrolada, dobrada com gota protoplasmática distal anexa); e Defeitos Menores: defeitos de cabeça (delgada, gigante, curta, larga, pequena normal, isolada normal); inserções abaxial, retroaxial e oblíqua; presença de gota protoplasmática distal; defeitos de cauda (enrolada, dobrada). O test hiposmótico foi realizado conforme a técnica descrita por Batista (2008).

Após a avaliação do sêmen, os ejaculados foram diluídos no diluidor a base de leite em pó desnatado (Kenney, 1975), posteriormente foram realizadas as análises antes descritas.



Figura 2- Avaliação do sêmen diluído com o diluente de Kenney. Fonte: Arquivo pessoal

3.5. Inseminação Artificial

As fêmeas foram tratadas com PGF2 α - recebendo 0,265mg (1 ml) por animal via intramuscular, independente do período do ciclo. A partir do 5º dia pós aplicação estas fêmeas foram examinadas a cada 24 horas pelo método de ultrassonografia (Aloka 210 model UST-5813N-5 serial nº 95800558). Quando o folículo dominante alcançava 30 mm era aplicada uma dose de hCG , grupo 1: 1500 UI e grupo 2: 2500 UI e inseminadas 24 horas depois. Foi utilizada a técnica de inseminação artificial com pipeta orientada manualmente através da cervix.

3.6. Diagnostico de Gestação

O diagnóstico de gestação foi realizado usando aparelho de ultrassonografia marca Chisson, modelo D 600 Vet, usando transdutor linear, pela via transretal, a partir do dia 16 dias da data da inseminação, sendo o controle realizado a cada 10 dias até o 45º dia de prenhez para o diagnóstico de eventual reabsorção embrionária.

3.7. Analise estatística

A análise estatística dos dados de todos os experimentos foi realizada através de teste do qui-quadrado ao nível de 5% de probabilidade.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 1 mostra o resultado dá fertilidade de jumentas inseminadas usando sêmen diluído com diluente comercial de Kenney, usando diferentes doses de HCG encontra-se na tabela abaixo:

Tabela 1- Taxa de gestação em jumentas inseminadas usando sêmen diluído com diluente comercial de Kenney, usando diferentes doses de hCG

| Dose de HCG | Nº de jumentas com controle folicular | Nº Jumentas inseminadas | Nº Jumentas gestantes |
|-------------|---------------------------------------|-------------------------|-----------------------|
| 1500 UI | 04 | 04 | 0 |
| 2500 UI | 04 | 04 | 2 (50%) |

Observa-se que no uso de 1500 UI como agente indutor da ovulação de um total de 04 jumentas inseminadas não foram obtidas gestações, já ao usar 2500 UI de HCG as fêmeas ovularam dentro de um período de 24-36 horas após a aplicação intramuscular desse hormônio.

Oliveira et al. (2011) reportam que o uso do sêmen refrigerado se mostrou adequado em éguas e jumentas, podendo ser depositado no corpo uterino, mostrando que em éguas alcançaram taxas de fertilidade de 90% e em jumentas de 45% quando foi usada uma concentração de 500×10^6 de espermatozoides viáveis.

Ao aumentar a dose de espermatozoides para 1×10^9 de espermatozoides, a fertilidade das jumentas alcançou 75%. Estes resultados sugerem que há necessidade de se empregar uma maior concentração espermática do sêmen de jumento (1×10^9 de espermatozoides viáveis) em jumentas do que em éguas, para se alcançar elevadas taxas de gestações. Esses resultados assemelham-se aos obtidos no presente trabalho ao usar diluente de Kenney.



Figura 4- Vesícula embrionária de jumenta com 35 dias após a inseminação artificial. Fonte: Arquivo pessoal

Observações de OLIVEIRA et al. (2011) relatam taxa de gestação em jumentas na ordem de 45% com dose de 500 milhões de espermatozoides, esses dados assemelham-se aos obtidos no presente trabalho com taxa de 50% de gestação em igual concentração

espermática já no uso de 1 bilhão de espermatozoides, foram obtidos valores de 75% de gestação.

Quanto ao uso de hCG na indução da ovulação na jumenta verifica-se que, as dosagens utilizadas encontram-se dentro dos valores estabelecidos por PENA-ALFARO et al. 2012 que recomendam o uso do hCH em jumentas nas doses de 1500 a 2500 UI. Deve-se considerar ainda que a resposta ao tratamento indutor da ovulação torna-se efetivo quando os folículos dominantes alcançam o tamanho considerado entre 30 e 35 mm, de acordo com as observações de SAMPER (2008) em éguas.

5. CONCLUSÃO

O uso de inseminação artificial usando o diluente de Kenney, associado à indução hormonal da ovulação com HCG, mostrou-se satisfatório na inseminação artificial de jumentas nordestinas.

REFERÊNCIAS

ALFARO, Carlos Enrique Peña et al. **Fisiologia e Biotecnologia da reprodução em asininos**. Disponível em: [http://www.uece.br/cienciaanimal/dmdocuments/CONERA_PALE-TRA%20\(16\).pdf](http://www.uece.br/cienciaanimal/dmdocuments/CONERA_PALE-TRA%20(16).pdf). Acesso em: 06 jun. 2013.

ÁLVAREZ, A. L.; SERRES, C.; CRESPO, F. et al. **Natural service and artificial insemination with cooled semen of Zamorano-Leonés donkey**. In: INTERNATIONAL CONGRESS ANIMAL REPRODUCTION, 15., vol. 2; 2004, Porto Seguro. *Proceedings*. p. 393.

BALL B. A. **An introduction to the use and application of cryopreserved equine semen**. In: Equine Assisted Reproductive Technology Workshop, 1998, Davis. *Proceedings...* Davis: [s.n.], 1998a. p.25-41.

DARENIUS A. **Experiences with chilled, transported equine semen**. In: Stallion Reproduction Symposium, 1998. *Proceedings...* Montgomery, AL: Society for Theriogenology, American Association of Equine Practitioners, 1998. p.60-70.

DEALS, P. F. **New technics of artificial insemination in the mare**. International Veterinary Information Service (www.ivis.org), Ithaca, New York, USA. nov. 2003. p. 1-4. Disponível em: www.ivis.org

FREITAS, V. J. F. **Sincronização do ciclo estral e fertilidade de cabras submetidas a dois níveis de gonadotrofina coriônica (eCG) inseminadas artificialmente**. 1988. 56p.

Monografia (Especialização em Produção e Reprodução de Pequenos Ruminantes)- Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 1988.

KENNEY, R. M. et al. **Minimal contamination techniques for breeding mares: techniques and preliminary findings**. In: ANNUAL CONVENTION, AMERICAN ASSOCIATION EQUINE PRACTITIONERS, 1975. *Proceedings...* Boston: AAEP, 1975. v. 21, p. 327-335.

MELLO, S. L. V.; HENRY, M.; SOUZA, M. C. et al. **Effect of split ejaculation and seminal extenders on longevity of donkey semen preserved at 5°C.** *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 52, p. 372-378, 2000.

NUNES, J. F. **A inseminação artificial como método alternativo para o melhoramento da caprinocultura leiteira.** In: SIMPÓSIO DA CAPRINOCULTURA DO ESTADO DO RIO, 1986, Niterói, RJ. Anais... Niterói, RJ, 1986.

NUNES, J.F. **Coconut water as diluent for goat semen.** In: IV CONFERÊNCIA INTERNACIONAL SOBRE CAPRINOS, 1987, Brasília, DF. Anais... Brasília, DF, 1987.

NUNES, J.F.; SALGUEIRO, C.C.M. **A água de coco em pó como diluidor do sêmen de animais domésticos.** *Revista de Ciências Agrárias*. Belém, n. 43, jun. / jul. 2005.

NUNES, J. F.; SALGUEIRO, C. C. M. **Utilização da água de coco como diluente do sêmen de caprinos e ovinos.** *Revista Científica de Produção Animal*, v.1, n.1, p.17-46, 1999.

PENA-ALFARO, C. E. Comunicação pessoal. 2010.

PAPA, Frederico Ozanam; ALVARENGA, Marco Antonio; DELL'AQUA JR, Antonio. **Manual de Andrologia e Manipulação de Sêmen Equino.** 32f. São Paulo, 2007.

PICKETT, B.W., SHINER, K.A. **Recent developments in artificial insemination in horses.** *Livestock Production Science.*, v.40, n.1, p.31-36, 1994.

SAMPER, J. C. **Techniques for artificial insemination.** In: YOUNGQUIST, R. S.; THREFFALL, W. R. *Current therapy in large animal theriogenology*. 2nd ed. Saint Louis: Saunders Elsevier, 2007. p. 37-42.

SAMPER, J. C.; ESTRADA, A. J.; MCKINNON, A. O. **Insemination with frozen semen.** In: *Current therapy in equine reproduction*. Saint Louis: Elsevier-Saunders, 2007. p. 285-288.

SAMPER, J. C. **Induction of estrus and ovulation: Why some mares respond and others do not.** *Theriogenology*, v.70, p. 445-447, 2008.

SQUIRES, E. L. ; BRUBAKER, J. K.; MC CUE, P. M. et al. **Effect of sperm number and frequency of insemination on fertility of mares inseminated with cooled semen.** *Theriogenology*, v. 49, p. 743-749, 1998.

VIDAMENT, M.; DUPERE, A.M.; JULIENNE, P.; EVAIN, A.; NOUE, P.; PALMER, E. **Equine frozen semen: freezability and fertility field results.** *Theriogenology*, 48, 907-917, 1997.

VIDAMENT, M.; VICENT, P.; YVON, J. M. et al. **Glycerol in semen extender is a limiting factor in the fertility in asinine and equine species.** *Animal Reproduction Science*, v. 89, p. 302-305, 2005.

WEISS, R.R. et al. **Inseminação artificial com semen "in natura" e diluído.** Disponível em: <http://ojs.c3sl.ufpr.br/ojs2/index.php/veterinary/article/viewArticle/4009>. Acesso em: 07 jun. 2013.