

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS AGROPECUÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

MIGUEL ALEJANDRO SILVA RUA

**BIOMETRIA TESTICULAR, AVALIAÇÃO DO SÊMEN E DO COMPORTAMENTO
SEXUAL DE GARANHÕES DO NORTE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO**

**CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
FEVEREIRO - 2014**

MIGUEL ALEJANDRO SILVA RUA

**BIOMETRIA TESTICULAR, AVALIAÇÃO DO SÊMEN E DO COMPORTAMENTO
SEXUAL DE GARANHÕES DO NORTE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito Parcial para obtenção de grau de Mestre em Produção Animal, na área de concentração de Fisiologia e Melhoramento Genético Animal.

Orientador: Prof^a. Celia Raquel Quirino

**Campos dos Goytacazes – RJ
2014**

MIGUEL ALEJANDRO SILVA RUA

**BIOMETRIA TESTICULAR, AVALIAÇÃO DO SÊMEN E DO COMPORTAMENTO
SEXUAL DE GARANHÕES DO NORTE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito Parcial para obtenção de grau de Mestre em Ciência Animal, na área de concentração de Fisiologia e Melhoramento Genético Animal.

Aprovada em 20 de fevereiro de 2014

BANCA EXAMINADORA

Prof. José Frederico Straggiotti Silva (Ph.D, Medicina Veterinária) - UENF

Prof^a. Aline Pacheco (Doutora, Ciência Animal) - UENF

Prof. Bruno Fagundes (Doutor, Ciência Animal) - UNIG

Marcus Antonio Pessanha Barreto (Doutor, Ciência Animal) - UENF

Prof^a. Celia Raquel Quirino (Doutora, Ciência Animal) – UENF
(Orientadora)

Conteúdo

.1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. BIOMETRIA TESTICULAR.....	3
2.2 - ESPERMATOGÊNESE.....	6
2.2.1. Espermatozoide.....	7
2.3. ASPECTOS FÍSICOS E MORFOLÓGICOS DO SÊMEN.....	9
2.4. COMPORTAMENTO SEXUAL DO GARANHÃO	12
2.5. TESTOSTERONA	15
2.6. REPETIBILIDADE.....	16
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	18
CAPÍTULO I	24
INTRODUÇÃO	24
MATERIAL E MÉTODOS	25
RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
CONCLUSÃO	43
BIBLIOGRAFIA.....	44
CAPÍTULO II	48
INTRODUÇÃO	48
MATERIAL E MÉTODOS	49
RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
CONCLUSÃO	76
BIBLIOGRAFIA.....	77
CAPÍTULO III	81
INTRODUÇÃO	81
MATERIAL E MÉTODOS	83
RESULTADOS E DISCUSSÃO	86
CONCLUSÃO	96
BIBLIOGRAFIA.....	97
CONCLUSÃO	101

Aos meus pais pela dedicação, pelo apoio, pelo carinho, por tudo;
À minha noiva Paula pelo companheirismo e carinho;
Aos meus familiares pela força e pelas orações

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus por estar comigo em todos os momentos;

À minha Orientadora Celia Raquel Quirino, pelas oportunidades, pelos ensinamentos e pela amizade;

Aos amigos Ricardo Lopes e Vivian Alves Costa pela oportunidade;

Ao amigo Marcus Barreto, por ter permitido realizar parte do experimento em sua central de transferência de embriões equinos e pelos ensinamentos;

Ao professor Frederico Straggiotti pelos ensinamentos;

Ao Dr. Bruno Fagundes pela contribuição;

Aos amigos Aylton Bartholazzi, Mariana Ribeiro, Paula Santoro e Wilder Vega pela ajuda no experimento;

A CAPES pela bolsa concedida;

A Universidade Estadual do Norte Fluminense pelas boas condições para desenvolver o trabalho.

Resumo

O objetivo do presente trabalho foi avaliar as características biométricas testiculares, as características seminais e o comportamento sexual de cavalos das raças Mangalarga Marchador, Paint Horse e Quarto de Milha, criados no Norte do Estado do Rio de Janeiro, para a seleção de cavalos com melhor desempenho reprodutivo durante a estação reprodutiva e fora da estação reprodutiva, já que o sêmen desses animais é coletado durante todo o ano independente da estação. Foram utilizados 15 garanhões das raças Mangalarga Marchador, Paint horse e Quarto de Milha. O sêmen desses animais foi coletado e avaliado segundo as características físicas e morfológicas. Após as coletas, o testículo dos garanhões foi mensurado, para avaliação do efeito sazonal no volume testicular e correlação com as características seminais. Foram coletadas amostras de sangue de cada garanhão em cada estação para mensurar a concentração plasmática de testosterona. Foi avaliado o comportamento sexual de cada animal para avaliação da libido. Foi observada diferença significativa ($p < 0,05$) do volume testicular em relação às estações reprodutivas e à idade dos animais, porém não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre as variáveis de características seminais, sendo observada diferença ($p < 0,05$) apenas em defeitos espermáticos entre as estações. O comportamento sexual dos garanhões e a concentração de testosterona não sofreram alterações com as mudanças sazonais, sugerindo que a falta de influência sazonal tenha ocorrido pelo fato de na região não haver grandes diferenças climáticas no decorrer do ano. Sendo assim, os garanhões apresentaram bom rendimento tanto na estação reprodutiva, quanto fora da estação reprodutiva. Apesar das variações de algumas características avaliadas durante o estudo os animais podem ser utilizados na reprodução durante e fora da estação reprodutiva, por apresentarem boas características reprodutivas.

Palavras-chave: Equinos, Reprodução, testículo, comportamento sexual

Abstract

The objective of this study was to evaluate testicular biometric characteristics seminal and sexual behavior of Mangalarga Marchador, Paint Horse and Quarter Horse bred in Northern part of Rio de Janeiro State, for selection of horses with better reproductive performance during reproductive and non reproductive season, since these are animal semen in collected throughout the year irrespective of season. 15 stallions Mangalarga Marchador, Paint Horse and Quarter Horse breed were used. The semen of these animals was collected and evaluated according to physical and morphological characteristics. After collection the testis of the stallions were measured to evaluate the seasonal effect on testicular volume and correlation with semen characteristics. Blood samples were collected from each stallion at each station to measure the plasma concentration of testosterone. Sexual behavior of each animal to evaluate libido has been reported. Significant difference ($p < 0,05$) was observed on testicular volume in relation to reproductive seasons and age of the animals, but there was no significant ($p > 0,05$) between the variables of semen characteristic. Difference ($p < 0,05$) was observed only in sperm defects between stallions. The sexual behavior of stallions and testosterone concentrations did not change with seasonal changes, suggesting that the lack of seasonal influence has occurred in the region because there are no great differences in climate throughout the year. Thus stallions showed good performance both in the breeding season, and non breed season. Despite the variations of some parameters evaluated during the study the animals may be used during the reproduction and outside the breeding season because they have good reproductive traits.

Keywords: Horses, reproduction, testis, sexual behavior

1. INTRODUÇÃO

O agronegócio do cavalo vem ocupando uma posição de destaque tanto em países desenvolvidos quanto em países em desenvolvimento, pois, crescentemente, os equinos vêm sendo utilizados como lazer e esporte. Em 2010 o Instituto Brasileiro de Geografia e estatística (IBGE) publicou dados de que há cerca de 5,6 milhões de equinos distribuídos em todo o território nacional, o que leva o Brasil a ocupar o terceiro lugar no ranking mundial em número absoluto da espécie (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2010). No Brasil, é uma atividade importante e lucrativa, refletindo uma movimentação econômica em torno de R\$ 7,3 bilhões por ano e gera cerca de três milhões de empregos direta e indiretamente (ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA LUIZ DE QUIROZ, 2006).

O crescimento no rebanho equino no Brasil se deve principalmente à utilização de biotécnicas da reprodução, sendo a inseminação artificial (IA) a mais utilizada.

Para a obtenção de melhores resultados na utilização da inseminação artificial equina, são necessários estudos mais amplos sobre os aspectos relacionados à fisiologia da célula espermática. Assim como aperfeiçoar e otimizar a aplicação dos testes que analisam a viabilidade dos espermatozoides submetidos à refrigeração, congelação e descongelação, uma vez que a criopreservação causa prejuízos nas funções celulares, o que resulta na redução da fertilidade (WATSON, 2000).

A melhor maneira de determinar a aptidão sexual de um garanhão é realizando um exame reprodutivo completo desse animal. Avaliações reprodutivas de rotina em machos equinos são requisitadas, a fim de confirmar a fertilidade do animal em questão. Sejam esses exames prévios à compra, ou para estabelecer limite da quantidade de éguas que esse garanhão estará apto a cobrir durante a estação de monta, ou mesmo para apontar problemas de infertilidade ou anormalidades testiculares (KENNEY et al., 1983; LOPATTE et al., 2003).

O exame andrológico é abrangente e inclui um exame clínico geral do animal, com realização de palpação da genitália externa, coleta e análise de sêmen (LOVE, 2007).

A biometria testicular é um requisito essencial na avaliação andrológica, uma vez que fornece informações úteis como previsão da produção espermática e comparação com o tamanho considerado dentro dos padrões de normalidade (KENNEY et al., 1983).

A partir da biometria testicular pode ser calculado o volume testicular, que é utilizado como importante ferramenta para estimar a condição de normalidade reprodutiva do órgão e para auxiliar na predição da produção espermática e no número de éguas a serem cobertas ou inseminadas com sêmen de um determinado reprodutor durante a estação de monta (MORAIS, 1990). De acordo com o mesmo autor, o tamanho e peso dos testículos estão altamente correlacionados com a produção de espermatozoides por dia sendo um bom preditor do potencial reprodutivo.

Com o propósito de obter uma técnica que demonstre maior acurácia para motilidade, alguns programas que utilizam análise computadorizada têm sido desenvolvidos e empregados para auxílio à técnica. Estes programas são mais objetivos e imprimem maior repetibilidade às avaliações (VERSTEGEN et al., 2002).

Em regiões de clima temperado, a produção, qualidade espermática e a função testicular são claramente mais elevadas durante as estações reprodutivas (dias longos), no entanto em dias curtos, fora da estação de monta, ocorre a diminuição do tamanho testicular e concentração de testosterona testicular (JOHNSON e THOMPSON, 1986; JANETT et al., 2003).

Portanto, o objetivo desse trabalho, foi avaliar a biometria testicular, a qualidade espermática, a repetibilidade das características seminais, assim como o comportamento sexual de garanhões durante e fora da estação reprodutiva, do ano de 2013 na região Norte do Estado do Rio de Janeiro.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. BIOMETRIA TESTICULAR

Em machos adultos da espécie equina, a biometria testicular tem como principal finalidade diagnosticar alterações testiculares, assim como auxiliar na predição da produção espermática diária, e do potencial reprodutivo (SQUIRES & PICKETT, 2011).

Devido à disposição horizontal dos testículos no escroto do garanhão, não é realizada a medida de perímetro escrotal, porém são realizadas mensurações de outras medidas como largura escrotal (Figura 1), comprimento e altura (Figura 2) (VARNER et al., 1991).

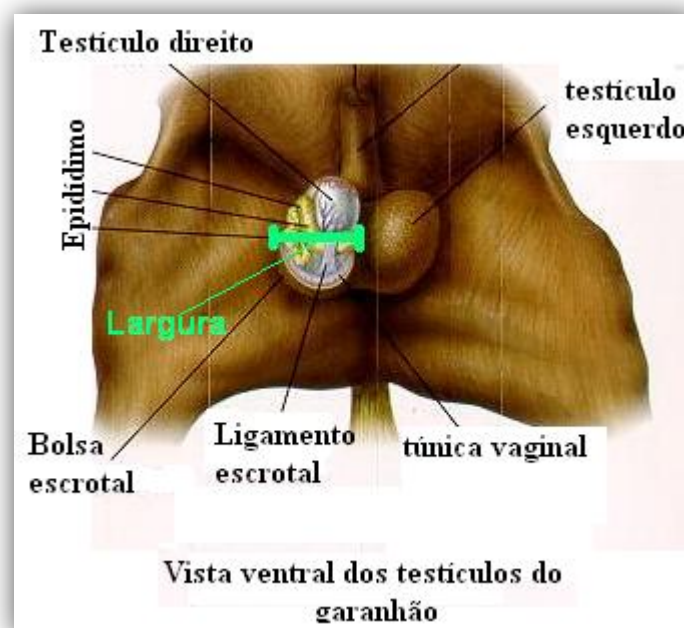


Figura 1: Largura testicular de Garanhão
Modificado de PAPA et al. (2011)

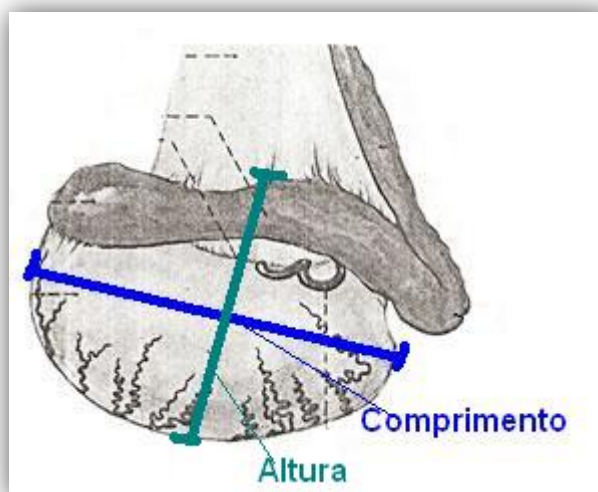


Figura 2: Medidas de comprimento e altura testicular de garanhão
Modificado de Horst e Hans, (2010).

A produção espermática diária é considerada como sendo o número total de espermatozoides produzidos diariamente pelos testículos. O número de espermatozoides que um animal é capaz de produzir depende da quantidade de tecido funcional presente nos testículos. Ou seja, está relacionada diretamente com as dimensões testiculares, uma vez que a produção de espermatozoides produzidos depende da quantidade de tecido testicular. Sendo assim, a utilização da medida de largura escrotal total é uma aplicação útil para prever a produção espermática diária de um garanhão, havendo um coeficiente de correlação entre largura escrotal total e peso do parênquima testicular de $r = 0,83$, e entre largura escrotal total e produção espermática diária $r = 0,75$ (THOMPSON et al., 1979).

Em garanhões um grama de parênquima é equivalente à produção de $18-20 \times 10^6$ espermatozoides presentes em um ejaculado (AMANN, 1993).

Ou seja, testículos maiores possuem maior potencial de produção espermática, uma vez que o tamanho e o volume dos testículos são medidas diretas da quantidade do parênquima testicular presente, que por sua vez determina o potencial da produção espermática (THOMPSON et al., 1979). No entanto, é necessário que o tecido testicular esteja completamente normal e funcional para que haja uma máxima produção espermática, uma vez que existem patologias que causam aumento das dimensões testiculares (LOPATE et al., 2003).

Picket et al., (1993) utilizaram a largura testicular para estimar o volume testicular e prever a produção espermática diária. Com isso, observaram que garanhões com largura escrotal total inferiores a 8 cm não apresentaram espermogramas dentro dos padrões considerados satisfatórios, devido ao baixo potencial de produção espermática diária.

Parlevliet et al. (1994) não verificaram nenhuma diferença significativa entre os testículos direito e esquerdo, para medidas de biometria testicular em reprodutores com idade média de 34 meses. Assim como Gregory (2012), que também não encontrou essa diferença em cavalos da raça Crioula. No entanto, Kavak et al. (2003) reportaram uma tendência do testículo esquerdo ter maior largura que o direito.

Ribas (2006) relatou em seus estudos que não houve diferenças significativas no volume testicular entre as estações chuvosa (outono) e seca (primavera). Os animais com idade entre 4 a 5 anos apresentaram tamanhos inferiores de testículos em relação aos animais com mais de 7 anos. Também foi observado pelo mesmo autor que os animais que apresentavam maiores volumes testiculares produziam maior número de espermatozoides por ejaculado.

Os reprodutores equinos por serem estacionais, apresentam suas características testiculares variáveis ao longo do ano, porém, tendem a manter a produção espermática entre as estações. As dimensões dos testículos de garanhões variam em função do número de células de Leyding, células de Sertoli e espermatozoides por grama de testículo, que por sua vez variam durante as estações do ano segundo (LOPATE et al., 2003).

No verão, o aumento na produção espermática diária de garanhões resulta no aumento na população de espermatogônia, assim como aumentam as concentrações plasmáticas de LH, testosterona, no número de células de Sertoli e de células de Leyding (JOHNSON e THOMPSON, 1983).

Silva et al. (2007) ao realizar medidas testiculares de cavalos da raça Lusitana com idade de 6 a 8 anos criados em Lisboa, observaram que houve variações nas medidas testiculares entre garanhões assim também como houve alterações sazonais da dimensão testicular de todos os animais. O volume dos testículos atingiu o valor máximo em março (primavera) e valor mínimo em outubro (outono), aumentando novamente em janeiro (inverno). Esses mesmos autores

relataram que houve uma correlação positiva e significativa entre volume testicular e a produção total de espermatozoides ($r = 0,65$). Foram observadas variações significativas de volume testicular e de produção de espermatozoides entre garanhões, mas em todos os garanhões se observou o mesmo padrão das características testiculares e seminais observado na média.

2.2 - ESPERMATOGÊNESE

Para uma boa avaliação da fertilidade de um garanhão, ou até mesmo verificar se há algum tipo de patologia presente no órgão reprodutor do animal, que possa causar problemas reprodutivos, a localização, a forma e o tamanho de cada órgão devem ser conhecidos. O aparelho genital masculino dos equinos é composto por dois testículos, os quais são sustentados, cada um, por um cordão espermático e pelo músculo cremaster, dois ductos deferentes cada um conectado a uma ampola, uma glândula prostática, um par de glândulas vesiculares, um par de glândulas bulbouretrais, pênis, uretra, músculo isqueocavernoso, bulboesponjoso e retrator do pênis (AMANN, 2011).

Nos mamíferos, a espermatogênese é um processo cíclico em que ocorre a multiplicação e diferenciação celular das células primordiais ou espermatogônias, que passam por complexas transformações até a formação de espermatozoides maduros. A espermatogênese ocorre no epitélio dos túbulos seminíferos, que fica localizado no parênquima testicular, onde as espermatogônias se diferenciam em espermatócitos e espermátides. Sendo os túbulos seminíferos uma camada mioide celular localizada ao redor da lâmina basal, que por sua vez circunda um complexo de células somáticas (Sertoli e de Leyding) e germinativas (espermatogônias). No epitélio do túbulo seminífero ocorre a formação dos espermatozoides, que são liberados em seu lúmen pelas células de Sertoli, e posteriormente ascendem para a parte reta do túbulo, que são os canalículos eferentes e cabeça do epidídimo. A principal função das células de Leyding (compõem o interstício) é a secreção de testosterona (JOHNSON et al., 1997).

A espermatogênese é um processo ordenado em que os espermatozoides são produzidos nos túbulos seminíferos e consiste em três fases de desenvolvimento. Nos equinos a espermatogênese tem uma duração de 57-58 dias:

- Espermatocitogênese: que consiste em divisões mitóticas durante aproximadamente 19 dias, em que a célula primitiva diploide, a espermatogônia, passa por repetidas divisões mitóticas para dar origem aos espermatócitos;

- A segunda fase é a meiótica, em que o material genético do espermatócito recombina e segrega para formar a célula haploide diferente morfologicamente que se denomina espermatíde. As células passam de uma forma esférica inicial a um formato alongado, de núcleo condensado e providas de axonema, à medida que se orientam em direção ao lúmen tubular;

- A terceira consiste na espermiogênese: constituída pela maturação e diferenciação de espermatídes em um período de 18 dias. O núcleo condensado e flagelo espécie-específico, ou espermatozoide que será liberado para o epidídimo, ocorre em intervalos de 12 dias, coincidente com o início de uma nova espermatocitogênese. Para que essa última fase ocorra, as espermatídes sofrem uma série de transformações que incluem a formação do complexo de Golgi, da cabeça, do acrossoma e a aquisição da capacidade de fertilizar o oócito (JOHNSON et al., 1997; MEYERS, 2009).

O acrossoma é um carreador de proteínas, adquiridas na sua formação e maturação, que são imprescindíveis para a interação do espermatozoide com a zona pelúcida, que consiste na reação acrossômica, fusão e penetração no oócito (NISHIMUNE & OKABE, 1993).

Foram descritas variações sazonais e etárias na produção de cada tipo celular, com alterações em níveis de células de Leyding e de Sertoli que influem sobre a produção diária de espermatozoide (*Daily Sperm Output – DSO*) (AMANN, 1993). Segundo esse mesmo autor, a eficiência espermática está relacionada com o volume do parênquima testicular.

2.2.1. Espermatozoide

O espermatozoide é uma célula constituída por: cabeça e a cauda, que é dividida em peça intermediária, principal e terminal. Entre a cauda e a cabeça existe uma junção entre o bordo posterior da cabeça e a peça intermediária da cauda. Nos equinos, a cabeça do espermatozoide tem formato achatado, com dimensões de

aproximadamente 60-65 µm na parte média, 40 µm da parte principal, 4-5 µm parte final e aproximadamente 3,5-4 µm de largura de cabeça. O espermatozoide pode ser subdividido em membrana plasmática, acrossoma, núcleo e flagelo, onde há mitocôndrias. (MEYERS, 2009).

A membrana plasmática consiste em bicamada fosfolipídica com incorporação de moléculas de colesterol, carboidratos e proteínas associadas a lipídios ou ao glicocálice. Na cabeça do espermatozoide, a membrana divide-se em duas regiões, a acrossomática, incluindo o anel periférico e a maior parte do acrossoma e a pós-acrossomática ou segmento equatorial, onde se inicia a fusão entre o espermatozoide e a zona pelúcida. Ambas as zonas possuem a cápsula acrossomática (MEYERS, 2009).

O acrossoma é uma estrutura que se origina do Complexo de Golgi e consiste em uma matriz proteica em que se encontram enzimas hidrolíticas e glicolíticas, que atuam na penetração da zona pelúcida do oócito (MEYERS, 2009).

O DNA do espermatozoide se encontra presente no núcleo localizado na cabeça do mesmo. Esse material genético é altamente condensado e intimamente associado às proteínas nucleares e às protaminas (MEYERS, 2009). De acordo com o mesmo autor cauda do espermatozoide, ou flagelo, compreende o colo, peça intermediária, principal e terminal. A função do flagelo é promover a motilidade do espermatozoide para atravessar o trato reprodutivo da fêmea e alcançar a ampola do oviduto, onde ocorre a fecundação.

Nos equinos a fossa de implantação da cauda na cabeça do espermatozoide sofre um desvio abaxial, o que causa um desvio da cauda e conseqüentemente movimentos circular ou semicircular, que até certo nível é aceitável (MEYERS, 2009).

A espermatogênese depende de ações do eixo hipotálamo-pituitário-gonadal, que envolve a secreção pulsátil de GnRH pelo hipotálamo, e conseqüentemente causa a liberação pulsátil de gonadotrofinas pela pituitária anterior. Os hormônios folículo estimulante (FSH) e Luteinizante (LH) atuam sobre as células testiculares através de uma modulação endócrina-parácrina-autócrina. Sendo que o GnRH tem efeito em nível da pituitária anterior, regulando a liberação de LH e FSH. A atuação do LH ocorre em nível de células de Leyding, causando a produção de testosterona e estrógenos. Já o FSH exerce função nas células de

Sertoli, portanto provocam a liberação de inibina, activina, proteína ligante de andrógenos (ABP), transferrina, estrógenos, fator de crescimento insulínico-1 (IGF-1) entre outros fatores necessários para a espermatogênese (Figura 3) (ROSER, 2009).

Segundo Johnson et al. (1997), a dinâmica espermática é regulada por opioides cerebrais e pela glândula pineal, que procede à secreção de melatonina, que por sua vez atua negativamente sobre o GnRH, fora da estação reprodutiva. O aumento do número de horas diárias de luminosidade é detectado pelas células ganglionares da retina, que contêm o fotopigmento melanopsina, ou seja, a produção de melatonina depende do fotoperíodo.

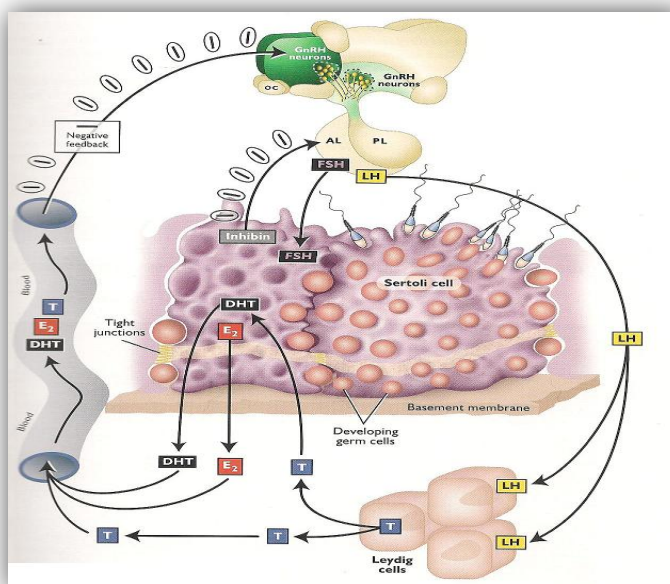


Figura 3: Interação entre hormônios produzidos pelas células de Sertoli, células de Leyding, Hipotálamo e Hipófise. Modificado de Senger (2003)

2.3. ASPECTOS FÍSICOS E MORFOLÓGICOS DO SÊMEN

A qualidade inicial do sêmen é um dos pré-requisitos para o sucesso na criopreservação do mesmo em garanhões, sendo que há uma variação considerável entre animais (SIEME et al., 2004).

Durante a estação reprodutiva o volume seminal é 40% maior do que no inverno, enquanto que a concentração média por ejaculado é 50% maior na estação reprodutiva de acordo com (LOPATE et al., 2003).

Ribas (2006) encontrou uma média geral de volume seminal de $44,28 \pm 15,69$ mL em cavalos da raça Pantaneira. Foi observado também que os animais

mais novos apresentaram menores volumes seminais. Houve uma alta correlação negativa entre volume e concentração espermática ($r = - 0,71$), no entanto houve uma correlação positiva ($r = 0,59$) entre volume e pH, também entre libido e volume seminal ($r = 0,59$).

Nascimento (2006) encontrou uma média de volume seminal de $77,2 \pm 23,2$ mL.

De acordo com Robalo Silva et al. (2007), há diferenças entre as estações do ano com relação ao volume médio total do ejaculado e a fração desprovida de gel, sendo que ambos diminuíram progressivamente entre a primavera e o inverno.

Já em relação à motilidade espermática e normalidade morfológica dos espermatozoides, Janett et al. (2003) observaram melhor motilidade espermática durante o verão, enquanto Robalo Silva et al. (2007) e Wrench et al. (2010) não observaram diferenças significativas. Robalo Silva et al. (2007) não observaram variações quanto à morfologia espermática ao longo do ano. Porém, discordando desses resultados, Janett et al. (2003) obtiveram menores percentagens de espermatozoides morfológicamente normais durante a estação de monta (verão), pois nesta estação obtiveram maiores concentrações de defeitos maiores, comparados com as demais estações.

Ribas (2006) não encontrou diferenças na concentração espermática entre as estações (cheia e seca) apresentando valor médio $207,71 \pm 5,25 \times 10^6$ milhões/mL. Alguns autores que realizaram estudos na América do Norte e Europa relataram haver oscilações entre os valores da concentração em diferentes estações do ano (CLAY et al., 1987; JANETT et al., 2003). Henry e Neves, (1998) encontraram a média total de espermatozoides por ejaculado ($8.652,93 \pm 2.769,67 \times 10^6$ milhões/mL) encontrando dentro dos padrões estabelecidos para equinos.

No estudo realizado por Nascimento (2006) foi encontrado $143,5 \pm 31,3 \times 10^6$ milhões/mL de valor de concentração espermática.

A motilidade espermática pode ser observada de forma subjetiva, sendo uma análise em microscópio óptico, em que se coloca uma gota de sêmen em uma lâmina, recobre-a com uma lamínula e estima-se visualmente a porcentagem de espermatozoides móveis. Sendo essa técnica a mais utilizada na rotina de laboratórios, tendo grande valor na diferenciação de sêmen com baixa e alta qualidade (ARRUDA et al., 2011).

Ribas (2006), realizando a análise subjetiva, observou valores de motilidade (%) de $64,14 \pm 6,58$ % (cheia) e $66,00 \pm 6,04$ (seca), e vigor espermático (0-5) $3,71 \pm 0,52$ (cheia) e $3,77 \pm 0,43$ (seca), não havendo diferença entre as estações estudadas.

Nascimento (2006) ao utilizar garanhões de sela com idade de 7 a 17 anos, na Universidade de São Paulo, campus Pirassununga, obteve resultados de motilidade $76,1 \pm 6,4$ e vigor espermático $2,6 \pm 0,3$ no período de Janeiro a Abril de 2005.

Silva et al. (2007) ao analisarem o sêmen de cavalos da raça Lusitana com idade de 6 a 8 anos criados em Lisboa observaram que a concentração de espermatozoides por unidade de volume e a porcentagem de espermatozoides vivos com motilidade progressiva e com morfologia normal não diferiram em todas as estações do ano. No entanto, Janett et al. (2003) observaram que as normalidades espermáticas melhoraram no Outono e que a incidência de anormalidades morfológicas foi máxima no Verão, mas outros autores referem que a incidência de anormalidades morfológicas é maior na contra-estação do que durante a estação reprodutiva (BLOTTER et al., 2001).

A avaliação automatizada (computadorizada) da motilidade dos espermatozoides é considerada uma análise objetiva, sendo muito importante devido ao fato da cinética espermática ter relevância na determinação do potencial de fertilidade dos espermatozoides (MATOS et al., 2008). Os parâmetros gerados da motilidade espermática pelo sistema são: Motilidade Total (MT%), referente à população de células que estão se movendo com velocidade mínima determinada no *setup*, sendo a proporção de células móveis total; Motilidade Progressiva (MP%), refere-se à porcentagem de células movendo-se progressivamente; Velocidade de Trajeto (VAP, $\mu\text{m/s}$), que é a velocidade média ininterrupta; Velocidade Linear (VSL, $\mu\text{m/s}$), é a velocidade média percorrida em linha reta entre os pontos inicial e final do trajeto; Velocidade curvilínea (VCL, $\mu\text{m/s}$), que é a velocidade média mensurada de ponto a ponto do trajeto da célula; Amplitude de Deslocamento Lateral da Cabeça (ALH, μm), é a largura média da oscilação da cabeça conforme a célula se move; Frequência de Batimentos (BCF, Hz), é a frequência com que a cabeça do espermatozoide move-se para traz e para frente durante o trajeto percorrido; Retilinearidade (STR, %), é o valor médio da proporção entre VSL/VAP; Linearidade

(LIN, %), é o valor médio da proporção entre VSL/VCL; e Velocidade Rápida (VR %) (ARRUDA, 2000).

Silva (2011) ao coletar sêmen de garanhões da raça Andaluz estabelecidos na Universidade de Extermadura, Cáceres, Espanha, encontrou resultados de MT ($73,0 \pm 2,87$ %), MP ($47,0 \pm 2,67$ %), VCL ($69,9 \pm 3,17$), VSL ($28,0 \pm 1,4$).

Nascimento (2006) ao coletar sêmen de garanhões no período de Janeiro a Abril de 2006, e fazer análise computadorizada do sêmen, encontrou resultado de MT ($81,4 \pm 4,7$ %), MP ($31,3 \pm 6,8$ %), VSL ($41,7 \pm 5,5$), VCL ($91,8 \pm 17$), ALH ($2,8 \pm 0,7$), BCF ($15,4 \pm 1,5$), STR ($32,2 \pm 4,6$), LIN ($22 \pm 4,4$).

As características morfológicas espermáticas são de forma geral, analisadas utilizando-se as técnicas de esfregaço corado ou câmara úmida. Como o espermatozoide é uma célula translúcida sua visualização sob microscopia óptica comum não é muito nítida para avaliação do contorno celular, por isso, quando se utiliza a microscopia comum deve-se fazer o uso de esfregaço corado. A técnica de câmara úmida deve ser utilizada quando a observação for em microscópio de contraste de fase, que é capaz de destacar os contornos das células (CELEGHINI, 2005).

Ribas (2006) comparando as características estudadas não observou diferença na qualidade espermática entre a cheia e a seca em cavalos Pantaneiros. Apenas no número de espermatozoides ejaculados e a percentagem de defeitos maiores que foram estatisticamente diferentes entre estações, apresentando-se superiores durante a seca do Pantanal.

2.4. COMPORTAMENTO SEXUAL DO GARANHÃO

O comportamento sexual do garanhão e os aspectos comportamentais importantes geralmente, não são levados em consideração, sendo que esses podem interferir no desempenho reprodutivo dos garanhões (RIBAS, 2006).

Bristol (1982), observando o comportamento reprodutivo de equídeos que cobrem livremente, percebeu que o garanhão e as éguas ficam juntos e interagem durante todo o ano. Porém, a frequência e a intensidade das interações sexuais variam ao longo das estações. Esse contínuo comportamento interativo durante todo o ciclo estral da égua inclui: aproximações periódicas, união pacífica ou zelo, investigação olfatória de urina e fezes.

No entanto, quando a égua está em estro, há um aumento na frequência de interação, aumentando também as sequências de rufiação pré-copulatória. Sendo que a frequência e a intensidade de interação entre o rufião e a égua, variam individualmente (McDONNELL, 2000).

Em haras, normalmente, não é permitido nenhum contato além de uma breve e conduzida interação pré-copulatória entre o garanhão e a égua. Sendo assim, para grande parte dos garanhões domésticos, é permitido um mínimo contato pré-copulatório com a égua. No entanto, alguns reprodutores realizam a cobertura com sucesso sem nunca tocar nas éguas, nem ter contato com a urina e fezes, ou secreções urovaginais delas. Esse fato é devido à capacidade do garanhão responder ao estímulo visual da égua devido ao seu condicionamento (McDONNELL, 2000).

Em liberdade, as éguas em estro, realizam repetidas aproximações do garanhão. As fêmeas em cio se mantêm próximas ao reprodutor, ou o seguem. As éguas urinam, erguem a cauda e apresentam seus posteriores quando próximas ao garanhão, várias vezes por hora (McDONNELL, 1992). Segundo o mesmo autor, o comportamento pré-copulatório do garanhão inclui: cheirar, lambe, morder ou morder o flanco, área inguinal e perineal, cabeça e regiões escapulares e axilares.

As cópulas a campo são precedidas de montas sem ereção. Esse fato acontece tanto para garanhões principiantes quanto para experientes, sendo considerado um elemento natural da interação pré-copulatória (HENRY et al., 1991).

Nas montas dirigidas, não é permitido que o garanhão monte na égua sem ter ereção completa. Portanto, para garanhões que demoram mais para realizar a cópula, as montas sem ereção podem acelerar o processo de cobertura. Normalmente, o condutor imediatamente força a desmonta de forma rude e com disciplina verbal e física. Pois esta intolerância ocorre por questão de segurança ao garanhão, sendo que o fato de ocorrer sucessivas montas aumenta o risco de injúrias (McDONNELL, 2000).

Normalmente após a monta, o garanhão abraça as tuberosidades ilíacas da égua com seus membros anteriores e com a cabeça contém a fêmea, segurando ou mordendo a crina (McDONNELL, 1992).

A inserção ocorre quando o garanhão está com o pênis totalmente exposto e rígido e a ejaculação é obtida após várias arremetidas intravaginais

profundas. Quando começa a ejacular, ocorrem contrações rítmicas musculares dos membros posteriores, aumento da taxa respiratória, abaixamento da cabeça contra a crina da égua e o balançar rítmico da cauda, que é bastante característico (McDONNEL, 1992).

Sieme et al. (2004) encontraram resultados em que algumas características espermáticas demonstraram mudanças significativas em comparação com o número de montas realizadas pelo garanhão. A concentração espermática, porcentagem de membranas intactas (no sêmen fresco), motilidade progressiva, porcentagem de membranas intactas no sêmen após congelamento e descongelamento foi significativamente reduzida em ejaculados coletados após três ou mais montas, comparados com ejaculados coletados depois da primeira e segunda monta. O volume seminal foi maior com o aumento do número de montas, assim como o número total de espermatozoides no ejaculado. Houve um aumento do volume do ejaculado à medida que aumentava o tempo para ejaculação.

Em experimento realizado com cavalos Pantaneiros, Ribas (2006) observou que em alguns dias de coletas houve uma nítida diminuição do interesse pelas fêmeas e um conseqüente aumento do tempo para realização da monta completa com ejaculação. Nestes dias, que ocorreram na estação chuvosa, a temperatura ambiente e a umidade relativa do ar estavam muito altas.

No entanto, Leme (2003) apesar de também relatar que alterações na temperatura ambiente dificultaram nas coletas em alguns dias, a diminuição da temperatura foi o que causou a diminuição da libido.

De acordo com Ribas (2006), houve diferenças significativas das libidos dos animais nas estações da seca e cheia do Pantanal Mato-Grossense e entre os animais, ocasionadas evidentemente por questões ambientais e inerentes ao próprio garanhão. Também foi observado pelo mesmo autor que os animais mais velhos e acostumados a cobrirem soltos no rebanho, só executavam a monta em fêmeas que apresentavam sintomatologia de estro muito evidente. Normalmente se as éguas não urinassem e se inclinassem para seu lado, tinham ereção, mas não realizavam a monta, provavelmente devido a erros da detecção do estro ocorridos no início de sua vida reprodutiva que provavelmente, lhes ocasionaram lesão física. Até que uma fêmea nessas condições lhes fosse apresentada na área de monta, não a realizavam.

Silva et al. (2007) analisando o comportamento de cavalos da raça Lusitana com idade de 6 a 8 anos, observaram que não houve diferenças significativas nos parâmetros de comportamento sexual entre as estações do ano. Muitos fatores influenciam a libido em garanhões. Esses fatores podem ser hereditários, influência ambiental, influência de diferentes tipos de manejos (SAMPER, 2009).

2.5. TESTOSTERONA

Alguns hormônios envolvidos na função reprodutiva do garanhão interagem no controle sexual e comportamento do garanhão, influenciando na excitação, ereção e ejaculação (ALVARENGA e PAPA, 2009).

Mesmo que a neuroendocrinologia da reprodução tenha sido intensivamente estudada em diversas espécies nos últimos anos, poucas pesquisas têm sido realizadas com machos da espécie equina. Um melhor entendimento do mecanismo de regulação do processo reprodutivo e comportamento sexual tem sido benéfico para melhorar o desempenho reprodutivo em garanhões.

A testosterona, a diidrosterona e o estrogênio, regulam a espermatogênese, as glândulas acessórias e a manutenção da libido. Especificamente a testosterona e o estrogênio atuam sobre o hipotálamo e a hipófise no mecanismo de feedback (BERTOL, 2009).

Dentre os andrógenos sintetizados pelas células de Leyding incluem-se a testosterona e a diidrosterona, os quais são responsáveis pela diferenciação do trato genital masculino, da genitália externa na fase fetal (Wu et al., 2007), e pelo aparecimento dos caracteres sexuais secundários e manutenção quantitativa da espermatogênese a partir da puberdade (Wu et al., 2007).

A testosterona é o principal hormônio masculino que controla a espermatogênese, a libido e as características sexuais secundárias e aumenta progressivamente, desde níveis muito baixos no animal pré-púbere até níveis elevados no adulto, em resposta à secreção de gonadotrofinas (GARNER E HAFEZ, 2004). A concentração sérica de testosterona $\geq 0,5$ ng/mL é marcadora do início da

puberdade, provocando, à medida que a idade avança uma melhoria nas características físicas do sêmen até a maturidade sexual (Naden et al., 1990).

A testosterona é produzida pelas células de Leyding e difunde pelos túbulos seminíferos induzindo as células de Sertoli a produzir fatores locais que iniciam e mantêm o desenvolvimento das células germinativas (Garner e Hafez et al 2004).

Através da ação de receptores presentes nas células de Sertoli, a testosterona é responsável por manter uma adequada função da barreira hematológica testicular (MENG et al., 2005) e na indução da meiose e do desenvolvimento após a meiose das células germinativas (HOLDCRAFT e BRAUN, 2004). A testosterona tem demonstrado capaz de inibir a apoptose celular (SINGH et al., 1995).

2.6. REPETIBILIDADE

A estimativa de valores para determinadas características em um mesmo animal, tende a se repetir e isto depende em parte, do genótipo do indivíduo, que é constante durante a vida do animal e em parte, pelas influências específicas do meio ambiente. A correlação média entre duas produções do mesmo indivíduo é medida através da repetibilidade (t) de uma característica (PEREIRA, 2012).

Através de múltiplas observações de uma mesma característica e de um mesmo animal, segundo Pereira (2012), há redução da variância devido aos efeitos temporários do ambiente, reduzindo com isto a variância fenotípica.

Segundo Abreu et al. (2001), a repetibilidade e as correlações entre as características seminais podem ser elementos de valor para se tomar decisões sobre o descarte de reprodutores devido à inadequada produção de sêmen de qualidade.

O cálculo da repetibilidade tem a função de estabelecer o limite superior dos valores geralmente maiores do que a herdabilidade, pois inclui além dos efeitos aditivos dos genes, os efeitos não aditivos de um mesmo grupo. A repetibilidade também vai indicar a acurácia das mensurações múltiplas, com consequente redução da variância fenotípica (PEREIRA, 2012).

Repetibilidade é a mensuração de resultados de repetidas condições onde resultados de mensurações independentes são obtidos utilizando um mesmo

método nos mesmos itens ou animais testados no mesmo laboratório pelo mesmo técnico usando os mesmos equipamentos (LAU, 2009).

Para repetibilidade para características reprodutivas em machos, são escassos os trabalhos que relatam esses valores.

A repetibilidade foi utilizada por Thompson et al., (2004), em um estudo para avaliar a extensão de várias fontes de variâncias quando se realiza uma coleta diária durante dez dias seguidos incluindo a análise da variância de um dia a outro, entre cada animal e entre todos os garanhões.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, C.P., ELER, J.P., BARBOSA, R.T., BRUSCHI, J.H., MADALENA, F.E., BARBOSA, F.E., JONDET, R. Produção de sêmen de touros mestiços *Bos taurus/Bos indicus* 2. Repetibilidade e correlações fenotípicas entre as características seminais. In: 38o **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Anais.Campo Grande: SBZ, mr.0098. 2001.

ALVARENGA, M.A.; PAPA, F.O. Principais distúrbios reprodutivos observados em garanhões no Brasil. Ver Bras Reprod Anim Supl, Belo Horizonte, n. 6, p. 204-209, 2009.

AMANN, R. P. Physiology and endocrinology. In A. O. McKinnon, Voss, J. L (Ed.), **Equine Reproduction** (6th ed., pp. 658-688). Iowa: Blackwell. 1993.

AMANN, R.P. Functional Anatomy of Adult Male. In: MCKINNON, A.O.; SQUIRES, E.L.; WENDY, E.V.; VARNER, D.D. **Equine Reproduction**. 2nd edition. Oxford: Wiley-Blackwell, Cap. 95, p. 867-880. 2011.

ARRUDA RP. Avaliação dos efeitos de diluidores e crioprotetores para o espermatozóide eqüino pelo uso de microscopia de epifluorescência, citometria de fluxo, análises computadorizadas da motilidade (CASA) e da morfometria (ASMA). 121f. **Tese** (Livre Docência) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

ARRUDA, R.P. CELEGHINI, M.A. ALONSO, H.F. CARVALHO, L.Z. OLIVEIRA, J. NASCIMENTO, D.F. SILVA, F.J. AFFONSO, N.M. LEMES, J.D. JAIMES. Métodos de avaliação da morfologia e função espermática: momento atual e desafios futuros. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, Belo Horizonte, v.35, n.2, p.145-151, 2011.

BERTOL, M. A. F. Estágio curricular supervisionado em reprodução animal. Trabalho apresentado para conclusão de curso de medicina veterinária da Universidade Federal do Paraná. 2009.

BLOM, E., 1973. The ultrastructure of some characteristics sperm defects and a proposal for a new classification of Bull spermogram. **Nordic Veterinary Medicine**, v.25, p.383-391, 1973.

BRISTOL, F. Breeding behavior of stallion at pasture with 20 mares in synchronized oestrus. **J. Reprod. Fertil.**, (Suppl 32), p. 71-77, 1982.

CLAY, C.M., SQUIRES, E.L., AMANN, R.P., PICKETT, B.W. Influences of season and artificial photoperiod on stallion: testicular size, seminal characteristics and sexual behavior. **J. Anim. Sci.**, 64:517-525. 1987.

ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA LUIZ DE QUIROZ – ESALQ. Estudo do Complexo Agronegócio Cavalo no Brasil. Brasília: CEPEA. 68p. (**Coletânea de Estudos Gleba**; n. 40). 2006.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS FOA. Disponível em: [HTTP://faostat.fao.org/site/573/DesktopDefault.aspx?PageID=573#ancorAcesso](http://faostat.fao.org/site/573/DesktopDefault.aspx?PageID=573#ancorAcesso) em: 20 de outubro de 2012.

GARNER D. L., HAFEZ E. S. E. Espermatozóide e Plasma Seminal. In: Hafez E. S. E., Hafez B. Reprodução Animal. São Paulo: Manole. 7. Ed. p. 99-106, 2004.

GREGORY J. W. Avaliação do desenvolvimento testicular de equinos da raça Crioula no período da pei-puberdade. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federam do Rio Grande do Sul. 2012.

HENRY, M.; McDONNELL, S.M.; LODI, L.D.; GASTAL, E.L. Pasture mating behavior of donkeys (*Equus asinus*) at natural and induced oestrus. **J. Reprod. Fertil.**, (Suppl 44), p. 77-86, 1991.

HENRY, M.; NEVES, J.P. Manual para exames andrológico e avaliação de sêmen. 2 ed. Belo Horizonte: **Colégio Brasileiro de Reprodução Animal**, 49p. 1998.

HOLDCRAFT, R.W., BRAUN, R.E. Androgen receptor function is required in Sertoli cells for the terminal differentiation of haploid spermatids. *Development* 131, 459–467. 2004.

HORST E. K; HANS. G. L. Anatomia dos animais domésticos. Texto e atlas colorido - 4ª edição, Editora Artmed, 2011.

JANETT, F.; THUN, R.; NIEDERER, K.; BURGER, D.; HASSIG, M. Seasonal changes in sêmen quality and freezability in the Warmblood stallion. **Theriogenology**, v. 60, p. 453-461. 2003.

JOHNSON, L.; THOMPSON, D.L. Seasonal variation in the total volume of Leyding cells in stallions is explained by variation in cell number rather than cell size. **Biology of Reproduction**, v. 35, p. 971-979. 1986.

JOHNSON, L.; BLANCHARD, T.L.; VARNER, D.D.; SCRUTCHFIELD, W.L. Factors affecting spermatogenesis in the stallion. **Theriogenology**, v.48, p.1199-1216, 1997.

KAVAK A., LUNDEHEIN N., AIDNIK M., EINARSSON S. Testicular measurements and daily sperm output of Tori and Estonian breed stallion. **Reprod. Dom. Anim.** 38, 167-169. 2003.

KENNEY, R.M.; HURTGEN, J.; PIERSON, R.; WITHERSPOON, D.; SIMONS, J. Manual for clinical fertility evaluation IF the stallion. Hastings: **Journal Society Theriogenology**. v.9, 100p. 1983.

LAAT, D.M. Contribuição genética de fundadores e ancestrais na raça Campolina. 2001. 34f. **Dissertação (Mestrado)**-Instituto de Ciências Biológicas. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte

LAU, A. T. What are repetibility and reproducibility. Engineering Services Canada, is chair of Subcommittee D02.94 on Quality Assurance and Statistics, part of ASTM Committee D02 on Petroleum Products and Lubricants, and a contributing member of Committee E11 on Quality and Statistics 2009.

LOPATE, C.; LEBLANC, M.; KNOTTENBELT, D. THE STALLION. In: KNOTTENBELT, D. C.; LEBLANC, M.; LOPATE, C.; PASCOE, R.R. Equine stud farm medicine and surgery. London: Ed. Elsevier Science, p. 43-112. 2003.

LOVE, C.C. Reproductive examination of stallion: evaluation of potential breeding soundness. In: YOUNGQUIST, R.S.; THREFALL, W.R. (Ed) Current Therapy in Large Animal Theriogenology. 2. Ed Saint Louis: Saunders- Elsevier, P.10-14. 2007.

MATOS DL, ARAÚJO AA, ROBERTO IG, TONIOLLI R. Análise computarizada de espermatozoides: revisão de literatura. **Rev Bras Reprod Anim**, v.32, p.225-232, 2008.

McDONNELL, S.M. Normal and abnormal sexual behavior. In: Blanchard, T.L., Varner, D.D. (Eds.), Stallion Management. Vet. North Am. Equine Pract., vol. 8, p. 71-89, 1992.

McDONNELL, S.M. Reproductive behavior of stallions and mares: comparison of free-running and domestic in-hand breeding. *Anim. Reprod. Sc*, vol. 60-61, p. 211-219, 2000.

MEYERS, S. A. Sperm physiology. In J. C. Samper (Ed.), *Equine breeding management and artificial insemination* (2nd ed., pp. 47-55). Missouri: Saunders ELSEVIER. 2009.

MENG, J., HOLDCRAFT, R.W., SHIMA, J.E., GRISWOLD, M.D., BRAUN, R.E. Androgens regulate the permeability of the blood–testis barrier. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 102, 16696–16700. 2005.

METCALF E. S., LEY W. B., LOVE C. C. Semen parameters of the American Miniature Horse stallion. In: *Proceedings of the 43. Annual Conservatio of American Association of Equine Practitioners*, p. 202-203, 1997.

MORAIS, R.N. Contribuição ao estudo da biologia reprodutiva de jumentos (*Equus asinus*). São Paulo, 1990. 105p. **Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)** – FMVZ – USP, 1990.

NADEN J., AMANN R. P., QUIRES E. L. Testicular growth, hormone concentration, seminal characteristics and sexual behavior in stallions. *Jornal of Reproduction and Fertility*. v. 88, p. 167-176, 1990.

NASCIMENTO, J.F. *Mangalarga Marchador: Tratado morfofuncional*. Belo Horizonte: ABCCMM, 1999. 900p.

NASCIMENTO, J. Efeitos da concentração espermática e volume sobre as características do movimento espermático e sobre membranas plasmáticas, acrossomal e mitocondrial de espermatozóides equinos criopreservados. *Dissertação Mestrado, Qualidade e Produtividade Animal*. Universidade de São Paulo, Pirassuninga. 2006.

NISHIMUNE, Y.; OKABE, M. Mammalian male gametogenesis, growth, differentiation and maturation of germ cells. *Development and Growth Differentiation*, v. 34, p. 479-486, 1993.

PAPA F. A.; ALVARENGA M. A.; DELL’AQUA JR. J. A.; MONTEIRO G.A. *Manual de andrologia e manipulação de semen equino*. 2011. Disponível em www.botupharma.com.br. Acessado em: 20 de outubro de 2013.

PARLEVLIET J. M., KEMP B., COLENBRANDE B. Reproductive characteristics and semen quality in maiden Dutch Warmblood stallion. **Journal of Reproduction and Fertility** 101 (1), 183-187. 1994.

PEREIRA, J.C.C. *Melhoramento Genético Aplicado à Produção Animal* . 2ª ed. FEP-MVZ EDITORA. Belo Horizonte.555 p. 2012.

PICKETT, B. W. Reproductive evaluation of stallion. In: McKinnon, A. O., Voss, J. L. (Eds). Equine reproduction. Philadelphia: Lea and Febiger. p. 755-768. 1993.

RIBAS, J.A.S. Influência das estações cheia e seca nas características reprodutivas e seminais de garanhões da raça pantaneira. **Tese de doutorado**. Universidade Estadual do Norte Fluminense. 2006.

ROBALO SILVA, J.; AGRÍCOLA, R.; BARBOSA, M.; LOPES da COSTA, L. Variação sazonal do volume testicular, da produção e qualidade do sêmen e do comportamento sexual de cavalos Lusitanos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 102, p. 119-125. 2007.

ROSER, J. F. Reproductive endocrinology of the stallion. In J. C. Samper (Ed.), Equine breeding management and artificial insemination (2nd ed., pp. 17-31). Missouri: Saunders ELSEVIER. 2009.

SAMPER, J. C. Equine breeding mangement and artificial insemination. 2nd ed. 2009.

SENGER P. L. Pathways to pregnancy and parturition. 2ª Edição. 2003. Capítulo 10, p. 217-250.

SIEME.; KATILA, T.; KLUG, E. Effect of sêmen collection practices on sperm characteristics before and after storage and fertility of stallions. **Theriogenology**, v. 61, p. 769-784. 2004.

SILVA, C.M.B. Efeito da melatonina em espermatozóides de equinos. Universidade Técnica de Lisoa, 2011.

SILVA, J.R., AGRÍCOLA, R., BARBOSA, M., LOPES DA COSTA, L. Variação sazonal do volume testicular , da produção e qualidade do sêmen e do comportamento sexual de cavalos Lusitanos. Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa. RPCV 102 (561-562) 119-125. 2007.

SINGH, J., O'NEILL, C., HANDELSMAN, D.J., 1995. Induction of spermatogenesis by androgens in gonadotropin-deficient (hpg) mice. *Endocrinology* 136, 5311–5321. 1995.

SQUIRES E. L.; PICKETT B. W. Factors affecting sperm production and output. In: MCKINNON A. O., SQUIRES E. L.; VAALA W. E.; VARNER D. D. (Eds). **Equine Reproduction**. 2. Ed Wiley-Blackwell v. 1, 1344-1360, 2011.

STANBENFELDT, G.H.; EDQVIST, L. Processos reprodutivos do macho. In: SWENSON, M.J., REECE, W.O. Dukes – **Fisiologia dos Animais Domesticos**. 11^a Ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 1993. p. 603-414.

THOMPSON D. J. PICKETT B. W.; SQUIRES E. L.; AMANN R. P. Testicular measurements and reproductive characteristics in stallion. **Journal of Reproduction and Fertility**. v. 27, p. 13-17, 1979.

THOMPSON J. A.; CHARLEY C. L.; KELLY L. S.; STEVEN P. B.; TERRY L. B. DICKSON D. V. A Bayesian approach to prediction of stallion daily sperm output. Texas A&M University, College Station, USA. **Theriogenology** 62, 1607 – 1617. 2004.

VARNER D. D.; SHUMACHER J.; BLANCHARD T. L. JOHNSON L. Disease and management of breeding stallions. Sta Barbara: American Veterinary Publications, 349, 1991.

VERSTEGEN J, IGUER-OUADA M, OCLIN K. Computer assisted sêmen analyzers in andrology research and veterinary practice. *Theriogenology*, v.57, p.149-179, 2002.

WRENCH, N.; PINTO, C.R.F.; KLINEFELTER, G.R.; DIX, D.J.; FLOWERS, W.L.; FARIN, C.E. Effect of season on fresh and cryopreserved stallion sêmen. **Animal Reproduction Science**, v. 119, p. 219-227. 2010.

WU X., WAN S., LEE M. M. Key factors in the regulation of fetal and postnatal Leyding cell development. *Journal of Cellular Physiology*. v. 213, p. 429-433, 2007.

WATSON P.F. The causes of reduced fertility with cryopreserved sêmen. **Animal Reproduction Science** 2000; 60/61:481-92.

WATSON, P.F. The causes of reduces fertility with crypreserved sêmen. **Animal Reproduction Science**, v.60-61, p. 481-492, 2000.

CAPÍTULO I

Avaliação da biometria testicular de garanhões do Norte do Estado do Rio de Janeiro – Brasil

INTRODUÇÃO

Diante do crescimento e da expansão da espécie equina no Brasil, há a carência de informações referentes à eficiência reprodutiva. Dentro do estudo dos machos, as características mais importantes se relacionam com o desenvolvimento biométrico dos testículos e das características seminais dos garanhões.

Dentre as características a serem avaliadas na escolha de um reprodutor, além da avaliação andrológica, a biometria testicular é um fator importante, podendo inclusive, auxiliar na predição do potencial reprodutivo (CANISSO et al., 2008).

Os testículos são as gônadas masculinas e o local onde ocorre a produção de espermatozoides. Os testículos em garanhões são em formato ovoide, ligeiramente comprimidos em ambos os lados e apresentam-se em um eixo quase horizontal (ANGUS et al., 2011). Segundo os mesmos autores, a idade e a estação reprodutiva afetam o tamanho testicular.

Segundo Angus et al., (2011), o parênquima testicular consiste de túbulos seminíferos e tecido intersticial. Os túbulos seminíferos são delimitados pelo epitélio do túbulo seminífero que consiste em diferentes tipos de células germinativas como as espermatogônias, espermatócitos, espermátides, assim como células somáticas como as células de Leyding e células de Sertoli.

Segundo Angus et al., (2011), à medida que aumenta a idade dos garanhões, aumenta o número de células somáticas e germinativas presentes no parênquima testicular dos animais.

Segundo Johnson, (1986) em garanhões, as células de Sertoli proliferam com a aproximação da estação reprodutiva.

Janett et al. (2003) em seus estudos, observaram que a produção espermática e a função endócrina testicular sofrem influências da estação do ano.

Segundo Thompson et al. (1979), o volume e tamanho testicular são mensurações que estão diretamente relacionadas com a quantidade de espermatozoides produzidos.

Também se sabe que independente da estação do ano, a produção espermática e a fertilidade variam amplamente entre garanhões individualmente (SIEME et al., 2004).

O objetivo do presente estudo foi avaliar a biometria testicular através de mensurações da largura, comprimento, altura e volume dos testículos, assim como fazer o estudo das correlações da biometria testicular com as características seminais de garanhões das raças Mangalarga Marchador, Quarto de Milha e Paint Horse situados no norte do estado do Rio de Janeiro - Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 10 garanhões da raça Mangalarga Marchador, 3 garanhões da raça Quarto de Milha e 2 garanhões da raça Paint Horse com idades entre 2,5 a 18 anos que foram divididos em classe de animais jovens (≤ 4 anos de idade) e adultos (≥ 5 anos de idade), pertencentes a Haras situados no norte do Estado do Rio de Janeiro, Brasil, Latitude - 21° 45'15", longitude -41° 19'28", altitude 13 metros.

Durante o período em que decorreu o estudo, os animais foram mantidos em baias individuais e receberam ração comercial e capim picado duas vezes ao dia. Água e sal mineral foram fornecidos *ad libitum*.

Todos os animais mantiveram boa condição corporal durante o estudo, que foi realizado nos meses de Janeiro, fevereiro, março, abril e maio de 2013 (estação reprodutiva, ER=1); julho e agosto de 2013 (fora da estação reprodutiva, ER=2). Antes do período experimental, os garanhões foram submetidos a exame andrológico e foi constatado que todos mostraram características seminais e comportamento sexual normal e uma boa adaptação à técnica de coleta de sêmen com utilização de vagina artificial.

O peso dos animais foi estimado com fita específica para avaliação ponderal da espécie equina. A fita foi posicionada em volta do perímetro torácico do

animal, levando em consideração a parte mais alta da cernelha e a região externa, logo atrás dos membros torácicos.

Os testículos foram mensurados com paquímetro (Figura 1 e 2): comprimento testicular esquerdo (CTE); comprimento testicular direito (CTD), da borda cranial até a borda caudal; largura testicular esquerda (LTE); largura testicular direita (LTD) latero lateral de cada testículo; altura testicular esquerda (ATE); altura testicular direita (ATD), dorso ventral de cada testículo.

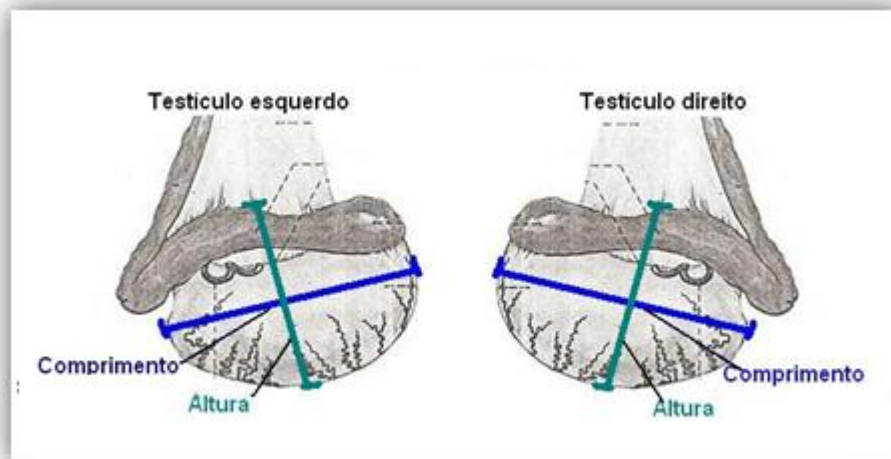


Figura 1: Medidas testiculares de comprimento e altura dos testículos direito e esquerdo de equinos.



Figura 2: medidas de altura testicular dos testículos esquerdo e direito.

O volume Testicular direito (VTD1 e VTD2), volume testicular esquerdo (VTE1 e VTE2) e o volume testicular total (VTT1 e VTT2) foram calculados utilizando as formulas:

- $VT_{E,D(1)} = 4/3 \pi (Lt/2 * Ct/2 * At/2)$ Love et al, (1991);
- $VT_{E,D(2)} = 0,5233 \times Lt \times Ct \times At$, Chenier, (2007).

Análise estatística

Foi feita a análise de variância das medidas testiculares mensuradas de cada garanhão (PROC MIXED, SAS). O modelo utilizado foi $Y_{ijkl} = \mu + C_i + Id_j + ER_k + E_{ijkl}$; em que:

- Y_{ijkl} = variável dependente;
- μ = média geral, associada à variável dependente;
- C_i = efeito fixo da $i^{ésima}$ coleta;
- Id_j = efeito da $j^{ésima}$ idade;
- ER_k = efeito da $k^{ésima}$ estação reprodutiva;
- e_{ijk} = resíduo aleatório associado a cada observação.

As médias foram comparadas pelo teste “SNK” em 5% de probabilidade. As correlações simples entre idade, peso, características de biometria testicular e volume testicular, foram calculadas com o procedimento CORR do programa estatístico SAS (2009).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Peso corporal

Ao estudar o peso corporal dos garanhões da raça Mangalarga Marchador, não foram encontradas diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as coletas, a idade dos garanhões.

A média geral de peso dos garanhões do presente estudo foi de $400,1 \pm 40,3$ kg. Lima et al., (2012) encontraram uma média geral de peso de garanhões da raça Mangalarga Marchador de $434,0 \pm 25,2$ ao estimar o peso dos animais com o uso de fita específica para avaliação ponderal da espécie equina. Os mesmos autores realizaram as avaliações no período de junho a outubro e com animais com idade acima de 3 anos. Moura (2010) ao estudar cavalos da raça Mangalarga Marchador, observou que os garanhões adultos apresentaram peso de 400,0 a 449,2 kg.

Na tabela 1 estão apresentadas as médias do peso dos animais em relação à coleta, à idade dos animais e à estação reprodutiva.

As médias de peso dos animais do presente estudo não variaram entre coletas, animais jovens e adultos e também não variaram entre estação reprodutiva.

Como os garanhões eram mantidos em sistema intensivo de criação e recebiam ração comercial, conseqüentemente não sofreram muita influência das variações ambientais e disponibilidade de alimento com relação ao período durante a estação reprodutiva, referente ao verão e chuvoso, e do período fora da estação reprodutiva, referente ao inverno e à seca. O que pode sugerir o fato de não haver variação do peso no decorrer das coletas e ER.

Tabela 1: Médias (x) e desvios padrão (DP) do peso dos animais de acordo com a coleta, idade e estação reprodutiva (ER), de cavalos da raça Mangalarga Marchador

Efeito	Peso (kg)	
	X \pm DP	
Coleta		
	1	386,8 \pm 40,8 ^a
	2	392,4 \pm 41,8 ^a
	3	415,4 \pm 41,2 ^a
	4	397,1 \pm 37,8 ^a
Idade		
	Jovem	404,7 \pm 48,4 ^a
	Adulto	396 \pm 33,7 ^a
ER		
	1	401,2 \pm 41,5 ^a
	2	397,1 \pm 37,8 ^a

Letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença entre as médias ($p < 0,05$).

Biometria testicular de cavalos da raça Mangalarga Marchador

Com relação à análise de variância das medidas analisadas (CTE, LTE, ATE, ATD), não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as coletas. Foi verificada diferença significativa ($p < 0,05$) no CTD e LTD em relação à coleta.

As médias gerais e o desvio padrão observados dos testículos dos cavalos da raça Mangalarga Marchador mensurados nesse estudo foram: CTE $8,6 \pm 0,8$ cm; ATE $6,1 \pm 0,9$ cm; LTE $5,4 \pm 0,8$ cm; CTD $7,8 \pm 1,6$ cm; ATD $6,3 \pm 0,8$ cm; ALD $5,7 \pm 0,9$ cm.

Candeias (2010) ao realizar as análises das medidas testiculares de cavalos da raça Mangalarga Marchador, com idade de 4 a 22 anos, encontrou médias gerais de CTE $9,5 \pm 1,2$ cm; ATE $8,5 \pm 0,7$ cm; LTE $6,3 \pm 0,6$ cm; CTD $9,2 \pm 1,46$ cm; ATD $8,9 \pm 1,1$ cm e LTD $6,4 \pm 0,6$ cm, sendo estas maiores que as médias gerais observadas no presente estudo.

No presente estudo, verificou-se tendência do comprimento do testículo esquerdo ser maior do que o comprimento do testículo direito, corroborando com os resultados de Paccamonti et al. (1999) e Kavak et al. (2003), que ao estudarem a biometria testicular de garanhões, reportaram uma tendência de o testículo esquerdo ser maior que o testículo direito.

Borges et al. (2010) ao estudarem a biometria testicular de cavalos da raça Campolina com idade menor que 5 anos e entre 5 a 10 anos, observaram que as medidas de biometria testiculares CTE, LTE e ATE foram maiores que as médias de CTD, LTD e ATD.

Hafez e Hafez, (2004) também observaram uma tendência do testículo esquerdo ser maior que o testículo direito, e sugeriu que a razão para essa diferença seria o fato de o testículo esquerdo se desenvolver de maneira mais precoce e rápida em relação ao testículo direito. Segundo Klug, (1982) o testículo direito, ao final do seu desenvolvimento atinge, normalmente, apenas 95% do tamanho do testículo esquerdo.

Na tabela 2 apresentam-se as médias e o desvio padrão das características de biometria testicular em relação à coleta de cavalos da raça Mangalarga Marchador.

As médias da característica CTE variaram entre as coletas apresentando maior média na coleta 1 e menor média na coleta 5. Foi observado que houve variação da LTD onde foi observada a maior média na coleta 3 em relação a outras coletas. Para a variável ATD, verificou-se diferença entre a primeira coleta e a coleta 5, sendo a primeira com maior média (Tabela 2). As médias de LTE, ATE e CTD não variaram entre coletas.

As características de largura testicular dos garanhões do presente experimento estão dentro do relatado por Pickett (1993), que sugeriu que garanhões com largura testicular total menor que 8,0 cm não devem ser aprovados como reprodutores, por que além de serem potencialmente maus produtores de espermatozoides, eles podem sofrer problemas reprodutivos futuros ou até mesmo passar características genéticas de hipoplasia para a progênie (LOPATE et al., 2003).

Tabela 2: Médias e desvios padrão do comprimento testicular esquerdo (CTE), largura testicular esquerda (LTE), altura testicular esquerda (ATE), comprimento do testículo direito (CTD), largura testicular direita (LTD), altura testicular direita (ATD), de cavalos da raça Mangalarga Marchador em relação às coletas.

Coleta	CTE(cm)	LTE(cm)	ATE(cm)	CTD(cm)	LTD(cm)	ATD(cm)
1	9,2 ± 0,3 ^a	6,4 ± 1,4 ^a	6,6 ± 1,1 ^a	8,1 ± 1,0 ^a	6,0 ± 0,5 ^b	7,1 ± 0,9 ^a
2	8,7 ± 1,2 ^{ab}	5,2 ± 1,0 ^a	6,7 ± 0,7 ^a	8,7 ± 0,5 ^a	5,6 ± 1,0 ^b	6,3 ± 0,8 ^{ab}
3	9,0 ± 0,7 ^{ab}	5,8 ± 0,7 ^a	5,8 ± 1,2 ^a	6,5 ± 2,7 ^a	7,3 ± 1,4 ^a	6,6 ± 0,9 ^{ab}
4	8,8 ± 0,7 ^{ab}	5,7 ± 0,6 ^a	6,7 ± 0,7 ^a	8,6 ± 0,7 ^a	5,3 ± 0,5 ^b	6,5 ± 0,9 ^{ab}
5	7,9 ± 1,0 ^{ab}	5,4 ± 0,8 ^a	5,1 ± 0,7 ^a	7,3 ± 1,6 ^a	4,9 ± 0,9 ^b	5,3 ± 0,7 ^b

Letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença estatística entre as médias ($p < 0.05$).

Ao realizar a análise de variância do volume testicular, verificou-se que o volume testicular utilizando as fórmulas 1 e 2 (VTD1 e VTD2), volume testicular esquerdo utilizando as fórmulas 1 e 2 (VTE1 e VTE2) e volume testicular utilizando

as fórmulas 1 e 2 (VTT1 e VTT2) não tiveram diferença significativa ($p > 0,05$) em relação à coleta.

As médias gerais observadas para o volume testicular dos cavalos da raça Mangalarga Marchador do presente estudo foram de VTE de $163,6 \pm 46,3 \text{ cm}^3$; VTD de $150,7 \pm 44,8 \text{ cm}^3$; VTT de $318,1 \pm 83,8 \text{ cm}^3$.

Na tabela 3 estão apresentadas as médias e o desvio padrão das características de volume testicular de cavalos da raça Mangalarga Marchador.

Não foram encontradas diferenças nas médias do VTE1 e VTE2 entre as coletas.

As médias de VTD1 e VTD2 se diferiram entre as coletas, onde na primeira coleta foram encontrados maiores valores comparando-se com a coleta 5 em ambas as análises. Também foram verificados que para VTT1 e VTT2, houve diferença das médias entre a primeira coleta e a quinta coleta, em que a primeira também apresentou maior média.

Os resultados observados no presente estudo para VTT durante as coletas que foram realizadas nos meses de janeiro a agosto, foram pouco menores do que as médias observadas por Freitas (2010) (VTT nos meses de Janeiro a agosto: $369,4 \pm 43,0 \text{ cm}^3$; $416 \pm 51,4 \text{ cm}^3$; $374,6 \pm 72,8 \text{ cm}^3$; respectivamente) ao estudar cavalos da raça Mangalarga Marchador.

Tabela 3. Médias e desvios padrão do volume testicular esquerdo 1 (VTE1), volume testicular direito 2 (VTD2), volume testicular total 1 (VTT1) e volume testicular total 2 (VTT2) de cavalos da raça Mangalarga Marchador em relação às coletas.

Coleta	VTE1(cm ³)	VTD1(cm ³)	VTT1(cm ³)	VTE2(cm ³)	VTD2(cm ³)	VTT2(cm ³)
1	$200,7 \pm 72,9^a$	$182,7 \pm 43,4^a$	$383,5 \pm 100,4^a$	$200,6 \pm 72,9^a$	$182,6 \pm 43,4^a$	$383,2 \pm 100,3^a$
2	$161,1 \pm 66,0^a$	$164,5 \pm 47,6^{ab}$	$329,6 \pm 110,1^{ab}$	$165,0 \pm 65,9^a$	$164,4 \pm 47,5^{ab}$	$329,4 \pm 110,1^{ab}$
3	$162,6 \pm 52,0^a$	$161,2 \pm 64,0^{ab}$	$324,9 \pm 110,6^{ab}$	$163,5 \pm 51,9^a$	$161,1 \pm 64,0^{ab}$	$324,7 \pm 110,6^{ab}$
4	$175,2 \pm 35,7^a$	$156,4 \pm 32,4^{ab}$	$331,6 \pm 64,3^{ab}$	$175,1 \pm 35,7^a$	$156,3 \pm 32,4^{ab}$	$331,5 \pm 64,2^{ab}$
5	$117,1 \pm 36,5^a$	$106,7 \pm 45,9^b$	$223,8 \pm 70,1^b$	$117,1 \pm 36,5^a$	$106,7 \pm 45,9^b$	$223,7 \pm 70,1^b$

Letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença estatística entre as médias ($p < 0,05$).

Ao analisar o efeito da idade dos garanhões da raça Mangalarga Marchador, separados em classes de animais jovens e adultos, sobre as características morfométricas dos testículos dos animais experimentais, foi

observado que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) para a variável CTE, ATE, CTD, ATD e LTD. No entanto, foi observado que a característica LTE apresentou diferença significativa com relação à idade.

Na tabela 4 estão apresentadas as médias das características de biometria testicular de cavalos da raça Mangalarga Marchador em relação à idade dos animais.

Foi observado que não houve diferença das médias de CTE, ATE, CTD, LTD e ATD entre animais jovens e adultos. Foi observado diferença nas médias de LTE, em que os garanhões adultos apresentaram a maior média em comparação aos cavalos jovens.

Cruz et al, (2009) ao estudarem garanhões da raça Mangalarga Marchador localizados na Bahia, observaram médias de 8,5 cm de CTD; 8,9 cm de CTE; 5,5 cm de LTD; 5,8 cm para LTE; 6,1 cm para ATD e 6,2 cm para LTE em animais jovens (< 4 anos de idade) e 10,2 cm para CTD; 9,9 cm para CTE; 6,3 cm para LTD; 6,3 cm para LTE; 7,0 cm para ATD e 7,0 cm para ATE em cavalos adultos (> 4 anos de idade), apresentando médias maiores de biometria testicular nos garanhões adultos.

Borges et al, (2010) observaram valores de biometria testicular de 10 cm para CTD; 10,1 cm para CTE; 5,8 para LTD; 6,2 cm para LTE; 6,6 cm para ATD; 7,0 para ATE em animais jovens (< 5 anos de idade) e 10,9 cm para CTD; 10,4 cm para CTE; 6,5 cm de LTD; 6,8 cm para LTE; 7,5 cm para ATD e 7,8 cm para ATE em garanhões adultos (> 5 anos de idade) ao estudarem cavalos da raça Campolina. Os mesmos autores verificaram que os garanhões adultos apresentam maiores médias de biometria testicular em animais adultos.

As médias de biometria testicular encontradas por Borges et al, (2010) apresentaram-se maiores que as médias observadas por Cruz et al, (2009) e no presente estudo. A raça Campolina é constituída de animais de maior porte comparando-se com cavalos da raça Mangalarga Marchador, fato que pode explicar a diferença dos valores de biometria testicular encontrados nos diferentes estudos.

Tabela 4: Médias e desvios padrão do comprimento testicular esquerdo (CTE), largura testicular esquerda (LTE), altura testicular esquerda (ATE), comprimento do testículo direito (CTD), largura testicular direita (LTD), altura testicular direita (ATD), de cavalos da raça Mangalarga Marchador em relação à idade dos animais.

Idade	CTE(cm)	LTE(cm)	ATE(cm)	CTD(cm)	LTD(cm)	ATD(cm)
Jovem	8,4 ± 1,1 ^a	5,3 ± 1,0 ^b	5,9 ± 1,0 ^a	7,3 ± 1,8 ^a	5,6 ± 1,6 ^a	6,0 ± 0,9 ^a
Adulto	8,7 ± 0,8 ^a	5,9 ± 0,7 ^a	6,3 ± 1,0 ^a	8,1 ± 1,6 ^a	6,0 ± 0,9 ^a	6,5 ± 1,0 ^a

Letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença estatística entre as médias (p<0.05).

Ao realizar a análise de variância do volume testicular com a idade dos animais (jovens e adultos), observou-se que VTE1 e VTE2 não tiveram variação significativa ($p > 0,05$). Foi verificada diferença significativa ($P < 0,05$) para as variáveis LTE, VTD1, VTD2, VTT1.

As médias das características de volume testicular direito, esquerdo e total, de cavalos da raça Mangalarga Marchador encontram-se apresentadas na tabela 5.

Pode-se observar que as médias de VTE1 e VTE2 não apresentaram diferenças entre animais jovens e adultos. No entanto, foi observada diferença entre as médias do VTD1, VTD2, VTT1 e VTT2, que se apresentaram maiores em animais adultos.

Robalo Silva, (2007) relatou medidas de VTT entre 171 a 246 cm³ e média de 208,0 ± 15,8 cm³, mensuradas com ultrassom e em cavalos da raça Lusitano com 6 a 8 anos de idade.

No presente estudo a média de VTT para cavalos adultos, apresentou-se maior que a média relatada por Robalo Silva, (2007), podendo sugerir a diferença dessa média entre raças diferentes e métodos de mensuração.

Tabela 5. Médias e desvios padrão do volume testicular esquerdo utilizando a fórmula 1 (VTE1), volume testicular direito utilizando a fórmula 2 (VTD2), volume testicular total 1 (VTT1) e volume testicular total 2 (VTT2) de cavalos da raça Mangalarga Marchador em relação à idade dos animais.

Idade	VTE1(cm ³)	VTD1(cm ³)	VTT1(cm ³)	VTE2(cm ³)	VTD2(cm ³)	VTT2(cm ³)
Jovem	144,6 ± 53,4 ^a	131,9 ± 48,9 ^b	276,6 ± 90,6 ^b	148,9 ± 55,6 ^a	131,9 ± 48,9 ^b	287,7 ± 89,9 ^b
Adulto	173,9 ± 51,8 ^a	165,7 ± 49,1 ^a	339,6 ± 97,1 ^a	173,8 ± 51,74 ^a	165,6 ± 49,1 ^a	339,4 ± 97,1 ^a

Letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença estatística entre as médias (p<0.05).

Na figura 3 se apresenta o gráfico de dispersão do VTT entre animais jovens e adultos. Pode-se observar que apesar das variações observadas entre animais da mesma idade ou classe de idade (jovens e adultos) há aumento do volume testicular com o aumento da idade dos garanhões.

Os resultados observados de volume testicular total em relação à idade do presente trabalho corroboram com Ribas (2006), que ao estudar o volume testicular total de cavalos da raça Pantaneiro, também observou que cavalos com idades entre 4 e 5 anos de idade apresentaram testículos de tamanho inferior aos animais com mais de 7 anos de idade. Segundo Roser (2000), o crescimento e desenvolvimento testicular máximo não ocorrem somente no período da puberdade, que ocorre de 12 a 18 meses, mas sim, é caracterizado por um processo longo que continua até que o garanhão atinja quatro a cinco anos de idade.

Segundo Angus et al, (2011), a porcentagem de composição de células testiculares e conseqüentemente o volume testicular tendem a aumentar com a idade dos garanhões. As taxas de células de Leyding por túbulo seminífero aumentam na proporção de 1 para 12 em animais de 2 a 3 anos de idade e na proporção de 1 para 4 para animais de 13 a 20 anos de idade, assim como o crescimento total do comprimento dos túbulos seminíferos que também aumentam com a idade dos animais.

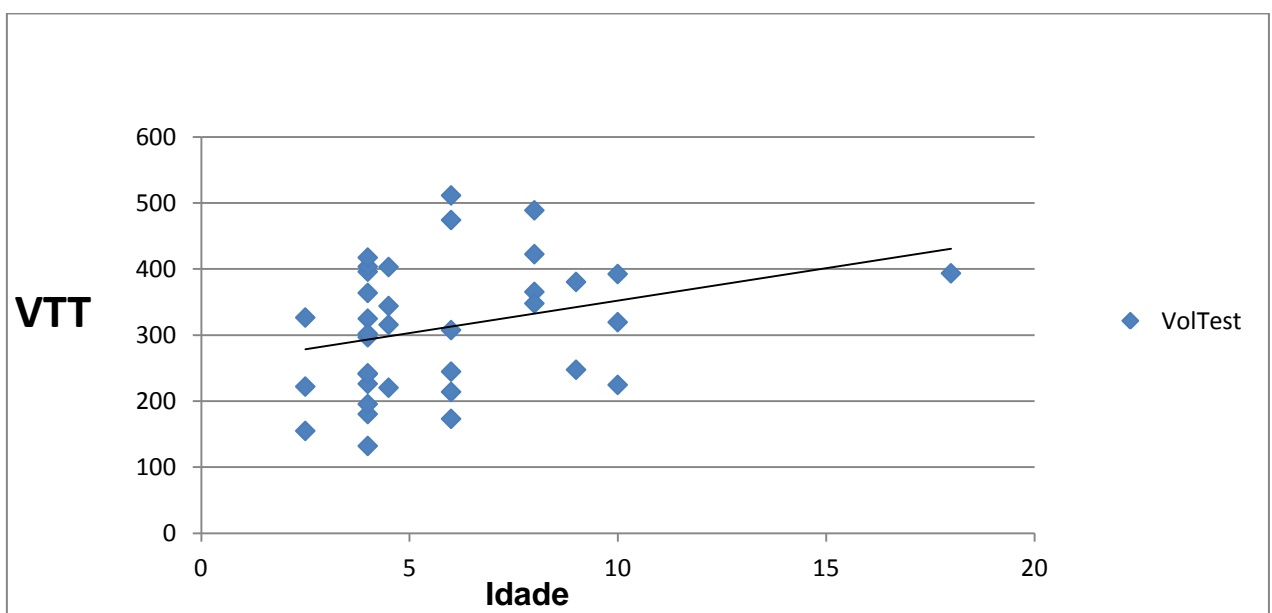


Figura 3. Gráfico de dispersão do efeito da idade no volume testicular total de cavalos da raça Mangalarga Marchador.

Na tabela 6 apresentam-se as médias das características de biometria testicular em relação à estação reprodutiva (1 e 2) de cavalos da raça Mangalarga Marchador.

As médias das características de biometria testicular, em geral, variaram em relação à estação reprodutiva (1 e 2). As maiores médias foram observadas na estação 1 em relação à estação 2.

Johnson, (1991) observou que durante a estação reprodutiva, as médias de peso do parênquima testicular, número de células de Leyding, células de Sertoli e espermatídes com núcleo esférico foram maiores do que quando realizada a mesma observação fora da estação reprodutiva. Sendo assim, como no presente estudo, foram observadas maiores médias das características de biometria testicular durante a estação reprodutiva em relação ao período considerado fora da estação reprodutiva, pode-se sugerir que o efeito da estação reprodutiva, proporcionou aumento do número de células de Leyding e células de Sertoli, conseqüentemente aumento do tamanho testicular.

Tabela 6. Médias e desvios padrão do comprimento testicular esquerdo (CTE), largura testicular esquerda (LTE), altura do testículo esquerdo (ATE), comprimento do testículo direito (CTD), largura testicular direita (LTD), altura testicular direita (ATD) de cavalos da raça Mangalarga Marchador em relação à estação reprodutiva (ER).

ER	CTE	LTE	ATE	CTD	LTD	ATD
1	8,9 ± 0,8 ^a	5,7 ± 0,9 ^a	6,4 ± 0,9 ^a	8,0 ± 1,7 ^a	6,1 ± 1,2 ^a	6,6 ± 1,0 ^a
2	7,6 ± 0,9 ^b	5,3 ± 0,9 ^a	5,1 ± 0,7 ^b	7,3 ± 1,6 ^a	4,9 ± 1,0 ^b	5,3 ± 0,7 ^b

Letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença estatística entre as médias ($p < 0.05$).

Na tabela 7 estão apresentadas as médias de VTD1, VTD2, VTT1 e VTT2 de cavalos da raça Mangalarga Marchador.

Foi observada diferença nas médias das variáveis de VTD, VTE e VTT entre a estação reprodutiva 1 e 2. As maiores médias foram observadas na estação reprodutiva 1, que coincide com o período do ano em que a incidência de luz é maior (dias mais longos) no norte do estado do Rio de Janeiro. No presente estudo, há um notório aumento no volume testicular durante a estação reprodutiva.

Johnson (1991) relatou que durante a estação reprodutiva, as médias de peso do parênquima testicular, o número de células de Leyding, o número de células de Sertoli e espermátides com núcleo esférico foi maior, comparando com as análises realizadas no período fora da estação reprodutiva.

Angus, (2011) observou efeito da estação reprodutiva no número e volume de células de Leyding presente no testículo de garanhões.

Considerando que no presente estudo a estação reprodutiva 1 corresponde à primavera e ao verão e a estação reprodutiva 2 corresponde ao outono e inverno os resultados apresentados discordam com os resultados encontrados por Freitas, (2010) ao avaliar o volume testicular de garanhões da raça Mangalarga Marchador em Viçosa, no estado de Minas Gerais, e relatou que a média de VTT não apresentou grandes variações entre as estações do ano, outono, inverno, primavera e verão. Diante do fato da região onde Freitas (2010) realizou seus estudos apresentar temperatura mais amena comparada com a temperatura da região Norte do Estado do Rio de Janeiro, pode-se sugerir que esse fato tenha influenciado na diferença entre as médias observadas para volume testicular em ambos os trabalhos.

Robalo Silva et al, (2007) relataram que o volume testicular de cavalos da raça Lusitano apresentou-se maior no inverno e menor no outono, ao realizar avaliação do volume testicular de cavalos da raça Lusitana, situados em Portugal.

Tabela 7: Médias e desvios padrão do volume testicular esquerdo 1 (VTE1), volume testicular direito 2 (VTD2), volume testicular total 1 (VTT1) e volume testicular total 2 (VTT2) de cavalos da raça Mangalarga Marchador em relação à estação reprodutiva (ER).

ER	VTE1	VTD1	VTT1	VTE2	VTD2	VTT2
1	173,4 ± 51,7 ^a	163,3 ± 46,0 ^a	336,7 ± 91,1 ^a	176,0 ± 51,7 ^a	163,2 ± 45,9 ^a	340,0 ± 90,8 ^a
2	117,1 ± 36,5 ^b	106,7 ± 73 ^b	223,8 ± 70,1 ^b	148,9 ± 55,6 ^b	106,7 ± 45,9 ^b	233,6 ± 69,5 ^b

Letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença estatística entre as médias ($p < 0.05$).

2. Peso e Biometria testicular de cavalos da raça Paint Horse

As médias gerais das medidas testiculares dos garanhões da raça Paint Horse foram $9,9 \pm 1,5$ cm para CTE, $7,3 \pm 1,1$ cm para CTD, $6,4 \pm 1,5$ cm para ATE, $6,4 \pm 0,3$ cm para ATD, $7,2 \pm 0,7$ cm para LTE e $6,3 \pm 0,5$ cm para LTD.

Na tabela 8 estão apresentadas as médias para peso e características de biometria testicular em relação à coleta, de cavalos da raça Paint Horse.

A média de peso dos cavalos da raça Paint Horse do presente estudo, não variou entre as coletas. Pode-se sugerir que o fato das coletas terem sido realizadas no mesmo período do ano, que foi no outono, influenciou para que o peso dos animais mantivesse próximo, assim como o fato de os garanhões serem criados em sistema intensivo e não sofrerem com a falta da disponibilidade de alimento.

Ao realizar análises de variância das características de biometria testicular de cavalos da raça Paint Horse, foi observado que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) em relação à coleta, exceto para a característica LTE que apresentou variância significativa ($p < 0,05$) em relação à coleta.

Em geral as médias das características de biometria testicular não apresentaram diferenças entre coletas, exceto a variável LTD em que na primeira coleta foi observado maior média em relação à segunda coleta.

As duas coletas realizadas nos garanhões da raça Paint Horse, foram no período durante a estação reprodutiva, o que justifica a pouca variação entre as médias, já que nesse período do ano há poucas variações ambientais no Norte do Estado do Rio de Janeiro que possam interferir nas medidas testiculares desses animais.

Segundo Thompson, (1985), a diminuição do tamanho das gônadas de garanhões ocorre por influência sazonal durante as estações do ano. Sendo assim, considerando que a análise das medidas testiculares dos garanhões da raça Paint Horse do presente estudo foi realizada apenas em uma época do ano considerada como outono, pode-se sugerir que este fato justifique a observação das medidas não terem se diferenciado entre as coletas 1 e 2.

Nas avaliações realizadas com cavalos da raça Mangalarga Marchador do presente trabalho, também foi observado variação na média LTD entre as

coletas, sendo que houve variação entre as coletas 1 e 2, que corresponde aos mesmos meses das coletas 1 e 2 dos garanhões da raça Paint Horse. As médias das variáveis testiculares foram observadas em cavalos adultos, e verificaram-se valores próximos ao observado nos cavalos da raça Mangalarga Marchador do presente trabalho.

No presente trabalho foram observadas médias das medidas testiculares apenas em animais adultos. Essas médias foram próximas às médias observadas por Borges et al, (2010), que relataram encontrar valores de biometria testicular de 10,9 cm para CTD; 10,4 cm para CTE; 6,5 cm de LTD; 6,8 cm para LTE; 7,5 cm para ATD e 7,8 cm para ATE em garanhões adultos (> 5 anos de idade) ao estudarem cavalos da raça Campolina.

Tabela 8. Médias e desvios padrão das variáveis: comprimento testicular esquerdo (CTE), largura testicular esquerda (LTE), comprimento testicular direito (CTD), largura testicular direita (LTD), altura testicular direita (ATD), de cavalos da raça Paint Horse em relação à coleta, idade, estação reprodutiva (ER).

Efeito	Peso	CTE	LTE	ATE	CTD	LTD	ATD
Coleta							
1	461,0 ± 35,35 ^a	9,7 ± 1,0 ^a	7,0 ± 0,0 ^a	5,8 ± 1,7 ^a	5,3 ± 0,7 ^a	9,0 ± 0,8 ^a	6,3 ± 0,4 ^a
2	461,0 ± 35,25 ^a	10,1 ± 1,8 ^a	5,6 ± 0,8 ^a	7,0 ± 1,2 ^a	6,1 ± 1,8 ^a	5,3 ± 0,6 ^b	6,6 ± 0,1 ^a
Idade							
Adulto	461,0 ± 28,9	9,9 ± 1,2	6,3 ± 0,9	6,4 ± 1,4	7,2 ± 2,4	7,1 ± 2,2	6,5 ± 0,3
ER							
1	461,0 ± 28,9	9,9 ± 1,2	6,3 ± 0,9	6,4 ± 1,4	7,2 ± 2,4	7,2 ± 2,2	6,5 ± 0,3

letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença estatística entre as médias (p<0.05).

Na tabela 9 estão apresentadas as médias das variáveis de VTD1, VTD2, VTE1, VTE2, VTT1 e VTT2 de cavalos da raça Paint Horse.

Em geral não foi observada diferença nas médias do volume testicular entre as coletas.

Robalo Silva, (2007) observou diferença nas médias de volume testicular entre as estações do ano. No presente estudo as médias de volume testicular foram analisadas apenas durante a estação reprodutiva, no período referente ao outono, não havendo variações sazonais entre coletas, sugerindo a não variação das médias de volume.

No presente estudo a média de VTT1 e VTT2 observada na estação reprodutiva, que foi referente ao outono, apresentou-se muito superior à média de VTT observada por Robalo e Silva, (2007), que encontrou uma média de $168,6 \pm 10 \text{ cm}^3$ de volume testicular no outono. O mesmo autor calculou a medida de volume testicular total por medições ecográficas, ou seja, método diferente do utilizado no presente estudo, onde foram estimados os valores de volume testicular total 1 e 2 utilizando duas fórmulas distintas.

Freitas (2010) observou uma média de volume testicular em outono de $416,1 \pm 51,4$ em cavalos da raça Mangalarga Marchador, apresentando-se superior à média de volume testicular total observada durante o outono, no presente estudo.

Tabela 9. Médias e desvios padrão das variáveis: volume testicular esquerdo 1 (VTE1), volume testicular esquerdo 2 (VTE2), volume testicular direito 1 (VTD1), volume testicular direito 2 (VTD2), volume testicular total 1 (VTT1) e volume testicular total 2 (VTT2) de cavalos da raça Paint Horse em relação à coleta, idade, estação reprodutiva (ER)

Efeito	VTE1	VTD1	VTT1	VTE2	VTD2	VTT2
Coleta						
1	$209,3 \pm 81,4^a$	$157,1 \pm 25,2^a$	$336,4 \pm 106,5^a$	$209,2 \pm 81,3^a$	$157,0 \pm 25,1^a$	$366,2 \pm 106,5^a$
2	$219,0 \pm 103,7^a$	$172,7 \pm 44,8^a$	$391,7 \pm 148,6^a$	$218,9 \pm 103,6^a$	$172,6 \pm 44,9^a$	$391,5 \pm 148,5^a$
Idade						
Adulto	$214,1 \pm 76,3$	$164,9 \pm 31,0$	$379,1 \pm 106,6$	$214,0 \pm 76,3$	$164,8 \pm 31,2$	$378,8 \pm 106,5$
ER						
1	$214,1 \pm 76,3$	$164,9 \pm 31,0$	$379,1 \pm 106,6$	$214,0 \pm 76,3$	$164,8 \pm 31,0$	$378,8 \pm 106,5$

letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença estatística entre as médias ($p < 0,05$).

Peso e Biometria testicular de cavalos da raça Quarto de Milha

As médias gerais das características testiculares dos cavalos da raça Quarto de milha foram $8,9 \pm 0,1$ para CTE, $6,9 \pm 0,7$ para CTD, $5,3 \pm 1,2$ para ATE, $6,0 \pm 1,1$ para ATD, $5,8 \pm 0,3$ para LTE e $6,9 \pm 0,3$ LTD.

Na tabela 10 estão apresentadas as médias de peso e das características de biometria testicular de cavalos da raça Quarto de Milha.

A média do peso dos animais da raça Quarto de Milha apresentou diferença entre as coletas 1 e 2, onde foi verificado maior média de peso na primeira

coleta em relação à segunda. No período em que foi realizada a segunda coleta de dados de peso dos animais, os mesmos encontravam-se em treinamento, sugerindo que essa diminuição da média de peso dos garanhões diminuiu devido ao esforço físico que os mesmos estavam sendo submetidos.

Segundo os padrões da raça Quarto de Milha sugeridos pela ABQM, foi relatado que o peso médio de cavalos dessa raça é de 500 kg. Sendo assim, no presente trabalho, a média geral de peso dos cavalos da raça Quarto de milha apresentou-se dentro do padrão estipulado para a raça.

Com relação às medidas testiculares estudadas para a raça Quarto de Milha no presente estudo, apenas a variável LTD apresentou diferença das médias entre coleta, com maior valor na primeira coleta, assim como foi verificado ao realizar as mesmas análises com cavalos da raça Paint Horse e Mangalarga Marchador, sugerindo uma tendência dessa medida LTD variar com maior frequência do que as demais medidas testiculares estudadas.

Tabela 10: Médias e desvios padrão das variáveis comprimento testicular esquerdo (CTE), largura testicular esquerda (LTE), comprimento testicular esquerdo (CTE), largura testicular direita (LTD), altura testicular direita (ATD), de cavalos da raça Quarto de Milha em relação à coleta, idade, estação reprodutiva (ER).

Efeito	Peso	CTE	LTE	ATE	CTD	LTD	ATD
Coleta							
1	422,3 ± 59,5 ^a	9,1 ± 0,5 ^a	6,7 ± 0,7 ^a	4,5 ± 0,4 ^a	4,5 ± 0,2 ^a	8,5 ± 0,8 ^a	6,3 ± 0,6 ^a
2	390,5 ± 51,8 ^b	8,6 ± 0,1 ^a	4,4 ± 0,6 ^a	6,5 ± 1,2 ^a	8,2 ± 0,7 ^a	4,6 ± 0,1 ^b	6,4 ± 0,8 ^a
Idade							
Adulto	486,0 ± 0,0 ^a	8,5 ± 0,4 ^a	5,9 ± 2,1 ^a	4,8 ± 2,4 ^a	4,5 ± 2,2 ^a	7,6 ± 2,8 ^a	6,2 ± 0,8 ^a
Jovem	390,5 ± 26,0 ^a	9,0 ± 0,4 ^a	5,8 ± 1,6 ^a	5,4 ± 1,5 ^a	6,3 ± 2,2 ^a	6,8 ± 2,5 ^a	6,4 ± 0,7 ^a
ER							
1	409,6 ± 48,3	8,9 ± 0,4	5,7 ± 1,4	5,3 ± 1,3	6,0 ± 2,1	6,9 ± 2,2	6,4 ± 0,6

letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença estatística entre as médias (p<0.05).

Na tabela 11 estão apresentadas as médias do VTD1, VTD2, VTE1, VTE2, VTT1 e VTT2 de cavalos da raça Quarto de Milha.

As médias de volume testicular direito, esquerdo e total, não variaram entre as coletas e a idade dos animais. Ribas (2006), também não observou diferenças nas médias de volume testicular entre coletas, embora tenha encontrado

diferença nas médias de garanhões da raça Pantaneira em diferentes idades. No presente trabalho há poucas observações de animais com idades diferentes.

Tabela 11: Médias e desvios padrão das variáveis volume testicular esquerdo 1 (VTE1), volume testicular direito 2 (VTD2), volume testicular total 1 (VTT1) e volume testicular total 2 (VTT2) de cavalos da raça Quarto de Milha em relação à coleta, idade, estação reprodutiva (1) e fora da estação reprodutiva (2).

Efeito	VTE1	VTD1	VTT1	VTE2	VTD2	VTT2
Coleta						
1	143,1 ± 22,3 ^a	127,0 ± 28,8 ^a	270,0 ± 50,8 ^a	143,0 ± 22,3 ^a	126,9 ± 28,8 ^a	269,9 ± 50,7 ^a
2	130,2 ± 7,3 ^a	128,3 ± 26,0 ^a	258,5 ± 30,3 ^a	130,2 ± 4,3 ^a	128,2 ± 26,0 ^a	258,4 ± 30,3 ^a
Idade						
Adulto	126,1 ± 1,1 ^a	111,2 ± 26,1 ^a	237,1,3 ± 25,0 ^a	126,0,0 ± 1,1 ^a	111,1 ± 26,1 ^a	236,9 ± 25,0 ^a
Jovem	141,0 ± 18,5 ^a	131,6 ± 26,0 ^a	272,5 ± 41,7 ^a	140,8 ± 18,5 ^a	131,5 ± 25,8 ^a	272,4 ± 41,7 ^a
Estação						
1	137,9 ± 17,4	127,5 ± 21,2	265,4 ± 39,5	138,0 ± 17,4	127,4 ± 24,1	265,3 ± 39,4

letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença estatística entre as médias (p<0.05).

4. Correlações entre as características testiculares

Na tabela 12 estão apresentadas as correlações entre peso, idade, características de biometria testicular e volume testicular.

Foi verificada correlação positiva e de baixa magnitude entre o peso e a idade dos garanhões do presente estudo. Sugerindo que os animais mais velhos apresentam maior peso.

Ao estudar as correlações entre as medidas de biometria testicular foram observadas correlações positivas e de média a alta magnitude entre CTE, VTE, VTD e VTT com a idade, indicando que à medida que aumenta a idade, o tamanho do testículo é maior. Thompson et al. (1979) verificaram que o tamanho testicular é afetado pela idade do animal, sendo os testículos dos garanhões com idade igual ou superior a sete anos maiores que os dos animais mais jovens.

A correlação entre volume testicular e peso dos animais foi de média magnitude. Também foi observado correlação de média magnitude entre VTE e CTD, e correlação de alta magnitude com CTE, LTE, ATE e ATD. Verificou-se também, correlação de média magnitude entre VTD com LTE e correlação de alta

magnitude com CTE, CTD e ATD. O VTT teve correlação de alta magnitude com CTE, LTE, ATE e ATD, já que à medida que aumentam as medidas testiculares, o volume também aumenta.

É importante ressaltar que o VTT foi calculado pela fórmula de Love et al, (1991) e pela fórmula de Chenier, (2007), em que são utilizadas as medidas de CTE, CTD, LTE, LTD, ALE e ATD para realização do cálculo, sendo assim é de se esperar que se encontre correlações de alta magnitude entre essas características com o volume testicular total.

O volume testicular calculado utilizando-se as fórmulas 1 e 2 no presente trabalho apresentou alta correlação, podendo-se utilizar tanto uma quanto a outra de forma indistinta.

Como o volume testicular apresentou alta correlação com as características de medidas testiculares, sugere-se que a partir da observação de uma dessas características pode-se ter uma ideia do provável volume testicular, conseqüentemente quantidade de parênquima testicular e produção de espermatozoide, já que na literatura encontram-se relatos de que existe alta correlação com o volume testicular com a produção de espermatozoides (ROBALO SILVA, 2007; ANGUS et al., 2011; FREITAS, 2010).

Tabela 12. Correlações entre idade, peso dos animais, comprimento testicular esquerdo (CTE), largura testicular esquerda (LTE), comprimento testicular esquerdo (CTE), largura testicular direita (LTD), altura testicular direita (ATD), volume testicular esquerdo 1 (VTE1), volume testicular direito 2 (VTD2), volume testicular total 1 (VTT1) e volume testicular total 2 (VTT2)

	Idade	Peso	CTE	LTE	ATE	CTD	LTD	ATD	VoITE	VoITD	VoITT
Idade	-										
Peso	0,22	-									
CTE	0,33*	0,26	-								
LTE	0,26	0,19	0,53**	-							
ATE	0,29	0,30	0,56**	0,1	-						
CTD	0,27	0,16	0,15	0,12	0,68	-					
LTD	0,09	0,05	0,34	0,59	-0,15	0,54	-				
ATD	0,23	0,17	0,39	0,26	0,61	0,41	0,17	-			
VoITE	0,42*	0,35*	0,84**	0,67**	0,76**	0,37*	0,29	0,55**	-		
VoITD	0,38*	0,24	0,54**	0,39*	0,71**	0,64**	0,20	0,83**	0,74**	-	
VoITT	0,42*	0,31	0,75**	0,58**	0,79**	0,53**	0,26	0,73**	0,94**	0,92**	-

* Significativo ($p < 0,05$), ** altamente significativo ($p < 0,001$).

CONCLUSÃO

A partir dos resultados observados no presente estudo, pode-se concluir que as medidas testiculares encontraram-se dentro dos padrões raciais para cavalos das raças Mangalarga Marchador e Quarto de Milha, e a partir das medidas de características testiculares pode-se prever o volume testicular.

BIBLIOGRAFIA

ABCMR. Disponível em http://www.ponei.com.br/sua_origem.htm. Acesso em: 24, Agosto, 2013.

ABQM, Associação Brasileira de Quarto de Milha. Padrão racial. Disponível em: http://www.abqm.com.br/php/portal/index.php?option=com_content&view=article&id=223%3Apadrao-racial&catid=28%3Aa-raca&Itemid=10. Acesso em: 10, fevereiro, 2014.

ANGUS, O., MCKINNON, EDWARD, L. SQUIRES, WENDY, E. VAALA and DICKSON, D. VARNER. **Equine Reproduction**. 2^a (ed). Editora Angus, O., Mckinnon. 3310 p. 2011.

ARRUDA , R. P., BALL, B. A. GRAVANCE, C. G., LIU, I. K. M. Evaluaton of effects of extenders and cryoprotectans on equine spermatozoa using computer-assisted sperm analyses (CASA) and flow cytometry. **Acta Sci. Vet.** 31, 228-229. 2011.

BORGES, G. S., VAZ de MELLO, M. I., MAMBRINI, J. V. M., SOECK, P. P. N. Biometria testicular de garanhões da raça Campolina. B. **Indistr. Anim.**, N. Odessa, v. 67, n. 2, p.157-162. 2010.

CANDEIAS, M. L. Avaliação de diferentes protocolos de criopreservação de sêmen de garanhões da raça Mangalarga Marchador. **Dissertação**. Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense. 2010.

CANISSO I.F. Alguns aspectos fundamentais do exame clínico andrológico de jumentos (*Equus asinus*). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 32, n. 4, p. 233-239, 2008.

CHENIER, T. S. Anatomy and examination of the normal testicle. In Samper, J. C., Pycock, J. F. & McKinnon, A. O.; Current Therapy in **Equine Reproduction**, p. 167-168; cap. 26; 2007.

CRUZ, M. A. B. Biometria testicular em garanhões Manglarga Marchador. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 31, n. 1, p. 30-34, 2009.

FREITAS, B. W. Parâmetros fisiológicos e seminais de garanhões da raça Mangalarga Marchador na região da Zona da Mata Mineira do decorrer das estações climáticas. **Dissertação** de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa-MG. 2010.

HAFEZ, E.S.E., HAFEZ, B. **Reprodução Animal** 7^a ed. Editora Manoele. (2004)

HENRY, M.; McDONNELL, S.M.; LODI, L.D.; GASTAL, E.L. Pature mating behavior of donkeys (*Equus asinus*) at natural and induced oestrus. **J. Reprod. Fertil.**, (Suppl 44), p. 77-86, 1991.

HORN, M.M.; MORAES, J.C.F.; GALINA, C.S. Qualidade do sêmen de touros das raças Aberdeen Angus e Brangus-Ibagé em frente à degeneração testicular experimental induzida por Dexametazona. **Ciência Rural**, v. 29, n. 3, 1999.

JANETT, F., THUN, R., NIEDERER, K., BURGER, D., HASSIG, M. Sazonal changes in semen quality and freezability in the Warmblood stallion. **Theriogenology**, 60: 453-461. 2003.

JOHNSON L. A new approach to quantification of Sertoli cells that avoids problems associated with the irregular nuclear surface. **Anat Rec** 1986;214:231–7.

JOHNSON L, THOMPSON DL Jr. Effect of seasonal changes in Leydig cell number on the volume of smooth endoplasmic reticulum in Leydig cells and intratesticular testosterone content in stallions. **J Reprod Fertil** 1987;81:227–32.

JOHNSON, L. Seasonal differences in equine spermatocytogenesis. **Biologi of Reproduction** 44:284-291. 1991.

KAVAK, A., LUNDEHEIM, N., AIDNIK, M., EINARSSON, S. Testicular measurements and Daily Sperm Output of Tori and Estonian Breed Stallions. **Reprod. dos. Anim.** 38, 167-169. 2003.

KLUG, E. Untershung zur klinischen andrologie des pferdes. 260f. Tese de Habilitação à docência – **Tieraerztliche Hochschule Hannover**, 1982.

LIMA, P. L., COELHO, R. C. O., DANTAS, J. R. S., FERRAZ, I. A., FALEIRO, A. S., CORDEIRO, C. F. A. Medidas lineares de equinos da raça Mangalarga Marchador criados na região de Itapetinga – BA. **Resumo**, Congresso Norte e Nordeste de Pesquisa e Inovação. Palmas – Tocantins, 2012.

LOPATE, C., LEBLANC, M., KNOTTENBELT, D. The stallion. In: Knottenbelt, D. C., Leblanc, M., Lopate, C. Pascoe, R. R. **Equine stud farm medicine and surgery**. London: Ed. Elsevier Science, p. 43-112. 2003.

LOVE, C. C., GARCIA, M. C., REIRA, F. R., KENNEY, R. M. Evaluation of measures taken by ultrasonography and caliper to estimate testicular volume and predict daily sperm output in stallion. **Journal of Reproduction and Fertility. Supplement** 44, 99-105. 1991.

MOURA, R. S. Probióticos ou fitase na dieta de potros Mangalarga Marchador. **Tese** (Doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais. 94 p. 2010.

PACCAMONTI, D. L., BUITEN, A. V., PARLEVILET, J. M., Colenbrander, B. Reproductive parameters of miniature stallions. **Theriogenology** 51, 1343-1349. 1999

PICKETT, B. W. Reproductive evaluation of stallion. In: McKinnon, A. O., Voss, J. L. (Eds). **Equine reproduction**. Philadelphia: Lea and Febiger. p. 755-768. 1993.

RIBAS, J.A.S. Influência das estações cheia e seca nas características reprodutivas e seminais de garanhões da raça pantaneira. **Tese** de Doutorado. Universidade Estadual do Norte Fluminense. 2006.

ROBALO SILVA, J.; AGRÍCOLA, R.; BARBOSA, M.; LOPES da COSTA, L. Variação sazonal do volume testicular, da produção e qualidade do sêmen e do comportamento sexual de cavalos Lusitanos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 102, p. 119-125. 2007.

ROSER, J. F. Regulation of testicular function in the stallion: Na intricate network of endocrine, paracrine and autocrine systems. **Animal reproduction Science** 107, p. 179-196, 2008.

SARREIRO, L.C., BERGMANN, J.A.G., QUIRINO, C.R., PINEDA, N.R., FERREIRA, V.C.P., & SILVA, M.A.. Herdabilidade e correlação genética entre perímetro escrotal, libido e características seminais de touros Nelore. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 54(6), 602-608. Retrieved January 29, 2014, from http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010209352002000600008&lng=en&tlng=pt. 10.1590/S0102-09352002000600008. 2002

SAS. User's Guide. SAS Inst., Inc., Cary, NC. 2009

SIEME, H, KATILA, T., KLUG, E. Effect of semen collection practices on sperm characteristics before and after storage and on fertility of stallions. **Theriogenology**, 61: 769-784. 2004.

SILVA, K. M. G. Efeito da estacionalidade e da adição de antioxidantes em algumas características espermáticas em equino. 90 p. **Tese** de Doutorado em Ciência Veterinária – Universidade Federal Rural em Pernambuco, Recife, 2007.

THOMPSON DL, PICKETT BW, SQUIRES EL, AMANN RP,. Testicular measurements and reproductive characteristics in stallions. **J Reprod Fertil Suppl** 27, 13–17. 1979.

THOMPSON, D. L., JHONSON, L., GEORGE, R. L. ST., GRAZA, F. Patterns of secretion of luteinizing hormone, follicle stimulating hormone and testosterone in stallion during the Summer and winter, **J. Anim. Sci.**, 60:741-748. 1985.

WRENCH, N., PINTO, C. R. F., KLNEFELTER, G. R., DIX, D. J., FLOWERS, W. L., FARIN, C. E. Effect of season on fresh and cryopreserved stallion semen. **Animal Reproduction Science**, v. 119, p. 219-277. 2010.

CAPÍTULO II

Características seminais e espermáticas de garanhões do Norte do Estado do Rio de Janeiro – Brasil

INTRODUÇÃO

A aplicação de biotécnicas reprodutivas utilizando o sêmen tem possibilitado maior aproveitamento de animais portadores de grande potencial zootécnico. O reprodutor deve apresentar eficiente potencial de fertilidade “in vitro” e “in vivo”, no entanto a qualidade do sêmen pode variar de indivíduo para indivíduo, com o manejo reprodutivo e com a idade, por isso, para avaliar o potencial de fertilidade dos reprodutores é fundamental a análise do sêmen e das células espermáticas (FERNANDES E PIMENTEL, 2002).

Bilhões de espermatozoides são produzidos diariamente e essa quantidade pode variar entre animais e entre coletas do mesmo animal, assim como pelo tamanho do parênquima testicular, da estação ou por algum processo patológico, ou condição ambiental (Heringer et al., 2004; Robalo Silva et al., 2007). Recomenda-se a utilização de métodos apropriados de coleta de sêmen, com intervalo e frequência adequada. Entretanto, Magistrini et al. (1987) e Sieme et al. (2004) relataram que, em programas de inseminação artificial, o sêmen do garanhão coletado em dias alternados não apresentou diferenças sobre a qualidade do sêmen.

Os cavalos mostram reprodução estacional, ou seja, possuem a capacidade reprodutiva máxima nos dias longos, principalmente no verão (Clay e Clay, 1992). A atividade reprodutiva durante o ano é regulada por um ritmo endógeno sincronizado através do estímulo ambiental chamado fotoperíodo. Estes estímulos são transmitidos pelo sistema neuroendócrino em sinais hormonais que regulam a atividade gonadal (Gorman e Zucker, 1995).

Na região Norte do Estado do Rio de Janeiro, o clima é quente durante todo o ano, apresentando também um período longo de seca.

O objetivo do estudo foi avaliar a qualidade do sêmen e estimar a repetibilidade das características físicas do sêmen de garanhões das raças

Mangalarga Marchador, Quarto de Milha e Paint Horse durante e fora da estação reprodutiva.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 15 garanhões das raças Mangalarga Marchador, Quarto de Milha e Paint Horse pertencentes a Haras situados no norte do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Os garanhões tinham idades entre 2,5 a 18 anos que foram divididos em classe de animais jovens (≤ 4 anos da idade) e adultos (≥ 5 anos de idade).

Durante o período em que decorreu o estudo, os animais foram mantidos em baias individuais e receberam ração comercial e feno duas vezes ao dia. Água e sal mineral foram fornecidos *ad libitum*.

Todos os animais mantiveram boa condição corporal durante o estudo, que foi realizado nos meses de fevereiro, março, abril de 2013 (estação reprodutiva - 1) e agosto de 2013 (fora da estação reprodutiva - 2). Antes do período experimental, os garanhões foram submetidos a exame andrológico e foi constatado que todos mostraram características seminais e comportamento sexual normal e uma boa adaptação à técnica de coleta de sêmen com utilização de vagina artificial da marca Botupharma[®]. Para a coleta de sêmen utilizada uma égua em estro natural como manequim para estimular o garanhão a realizar a monta.

A vagina artificial foi preparada previamente, sendo preenchida com água à temperatura de aproximadamente 45° C e com um volume ajustado para cada animal. Um filtro de nylon foi acoplado no copo coletor para separar a porção gelatinosa (que foi descartada) do sêmen.

Foram realizadas cinco coletas de sêmen de cada animal, com intervalo de 30 dias. Imediatamente após a coleta do sêmen, foi feita uma análise subjetiva do sêmen *in natura*. Foram avaliadas as seguintes características: motilidade (Motil %) e Vigor (Vig) avaliado com uso de um microscópio óptico com aumento de 100X; volume (ml) medido em tubo graduado e o pH com fita medidora de pH. Nas análises de laboratório, uma amostra do sêmen foi diluída na proporção de 1:200 em solução de formol citrato para fazer a estimativa de concentração espermática (Conc) com contagens de células espermáticas em câmara de Neubauer, e para se

obter o resultado do número total de espermatozoides (NTSTZ), multiplicou-se a concentração espermática pelo volume espermático de cada animal do presente estudo.

A análise computadorizada do sêmen foi realizada no laboratório de Tecnologia do Sêmen do Laboratório de Reprodução e Melhoramento Genético Animal da Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF. Foi utilizado o programa Hamilton Thorn Research (HTM-CEROS[®]), onde foram avaliados os parâmetros de motilidade e cinemática espermática.

As variáveis de motilidade espermática analisadas foram:

- Motilidade total (MotTT, %): corresponde à taxa de células móveis em relação à concentração total de células analisadas;
- Motilidade progressiva (MotPr, %).

São utilizados os seguintes parâmetros para classificação da velocidade da célula espermática (móvel):

- Velocidade média do trajeto (VAP $\mu\text{m/s}$): é a velocidade ininterrupta do caminho da célula. Representa a distância total ao longo do trajeto médio para cada espermatozoide dividido pelo tempo utilizado;
- Velocidade progressiva (em linha reta) (VSL, $\mu\text{m/s}$): é a velocidade média percorrida em linha reta entre início e fim do trajeto;
- Velocidade curvilínea (VCL, $\mu\text{m/s}$): é a velocidade média de cada ponto do trajeto seguido por cada célula. É definida pela distância total entre cada posição do centro de brilho do espermatozoide durante a aquisição da imagem, dividida pelo tempo gasto;
- Amplitude do deslocamento lateral da cabeça (ALH, μm): largura média da oscilação da cabeça do espermatozoide de acordo com o seu movimento;
- Frequência de batimentos (BCF, Hz): é a frequência que a cabeça do espermatozoide se move para cima e para baixo durante o trajeto;
- Retidão (STR, %): valor médio da proporção entre VSL/VAP. Determina a partida da linha de conduta da célula de uma linha reta;
- Linearidade (LIN, %): valor médio da proporção entre VSL/VCL. Determina a partida do trajeto da célula em uma linha reta.

Uma câmera de contagem 20 μL (Hamilton Thorne Research) foi utilizada para observação da amostra seminal através do microscópio óptico com aumento de

100X acoplado ao computador. As imagens dos espermatozoides foram capturadas e digitalizadas para análise pelo programa. Foram escolhidos quatro campos que apresentavam melhor motilidade aparente na amostra para submissão à análise, sendo esses valores digitados em arquivo Excel para posterior análise pelo programa estatístico SAS, (2009).

A avaliação da morfologia espermática foi realizada utilizando amostras mantidas em formol citrato preparadas através de câmara úmida e coradas com rosa bengala. Foram avaliadas em microscópio de contraste de fase e os defeitos espermáticos: de acrossoma, gota protoplasmática proximal, cabeça isolada patológica, cabeça subdesenvolvida, cauda enrolada na cabeça, cabeça com contorno anormal, formas teratológicas, pounce formation, patologias da peça intermédia, cauda fortemente dobrada ou enrolada, cabeça gigante, cauda dobrada com gota, retroabaxial, cabeça isolada, cauda dobrada e enrolada e gota protoplasmática distal. Os defeitos espermáticos foram classificados de acordo com Blom (1973) em defeitos maiores (Dma), defeitos menores (Dme) e defeitos totais (DT).

Análise estatística

Foi feita a análise de variância das características físicas, morfológicas e das variáveis fisiológicas dos ganhões (PROC MIXED, SAS). O modelo utilizado foi $Y_{ijklm} = \mu + C_i + Id_j + ER_k + A_l + E_{ijklm}$; em que:

- Y_{ijklm} = variável dependente;
- μ = média geral, associada à variável dependente;
- C_i = efeito fixo da $i^{\text{ésima}}$ coleta do sêmen;
- Id_j = efeito da $j^{\text{ésima}}$ idade;
- ER_k = efeito da $k^{\text{ésima}}$ estação reprodutiva;
- e_{ijk} = resíduo aleatório associado a cada observação.

As médias foram comparadas pelo teste “SNK” em 5% de probabilidade.

Para obter as correlações simples, foi usado o procedimento CORR do programa estatístico SAS (2009).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Características físicas do sêmen de garanhões da raça Mangalarga Marchador

Na tabela 1 encontram-se as médias das características físicas do sêmen (pH, volume, concentração espermática, número total de espermatozoides, motilidade e vigor espermático) para os garanhões da raça Mangalarga Marchador.

A média geral para pH observada no presente estudo foi de $7,2 \pm 0,3$. A média para essa variável foi próxima ao valor $7,35 \pm 0,11$ observado por Ribas (2006) ao realizar estudo com cavalos da raça Pantaneiro. Veronesi et al, (2010) ao estudar garanhões na Itália, encontraram uma média para pH de $7,7 \pm 0,1$, sendo pouco mais alta que a média observada no presente estudo.

Os valores de pH verificados no presente estudo, encontram-se dentro dos valores de pH observados para equinos, que segundo Henry e Neves (1998) variam de 6,8 a 7,6.

Tal variável está diretamente relacionada com a quantidade de constituintes inorgânicos presentes no plasma seminal, os quais apresentam relações diretas com a osmolaridade presente nos componentes do sêmen, como solução ativadora, influenciando a motilidade espermática (Rurangwa et al., 2004; Alvi e Cosson, 2005).

Segundo Franco Junior, (1997) o pH é determinado pelas secreções tanto da próstata (ácida) quando pela secreção das vesículas seminais (básica). O mesmo autor relatou que pH abaixo do normal para a espécie, sugere agenesia ou oclusão das vesículas seminais, e pH acima da média normal para cada espécie sugere a presença de infecção.

Segundo Fair e Cordonnier, (1978) o aumento do pH em humanos pode sugerir a presença de infecção.

Sendo assim, o estudo da variação do pH é de extrema importância para diagnosticar patologias ligadas à próstata e às vesículas seminais.

Segundo Mann (1964) e Salisbury e Vandermark (1964), o pH do sêmen é um dos fatores que mais afetam a motilidade, a viabilidade e o metabolismo dos espermatozoides nas várias espécies.

Salisbury e Vandermark (1964) e Chevalier (1979) relataram que o pH ácido inibe o metabolismo, enquanto o alcalino estimula o metabolismo dos espermatozoides. De modo geral, as amostras de sêmen tendem a neutralidade, apesar dos espermatozoides de mamíferos apresentarem grande resistência às variáveis de pH. Os mesmos autores observaram que a excessiva alcalinidade inicial do sêmen pode estar associada à baixa fertilidade do reprodutor, indicando, muitas vezes, baixa concentração espermática ou quando há presença de infecção bacteriana no ejaculado.

No presente estudo as médias de pH foram diferentes entre as coletas, sendo que a maior média foi observada na coleta 5, correspondente à coleta no mês de agosto (fora da estação reprodutiva), período de seca na região norte do estado do Rio de Janeiro. Discordando com Ribas (2006) que não observou diferenças significativas no pH entre as estações estudadas.

No pH entre animais jovens e adultos as médias não foram diferentes. Considerando que o pH seminal se altera em relação a algum processo patológico, seja na próstata (Franco Junior, 1997) ou bacteriana Fair e Cordonier, (1978), a idade não é um fator que possa estar influenciando nessa característica.

A média geral de volume seminal de cavalos da raça Mangalarga Marchador do presente estudo, foi de $44,4 \pm 27,9$ mL, resultado próximo à média observada por Ribas (2006), que ao estudar cavalos da raça Pantaneira obteve resultado de média geral para volume seminal de $44,28 \pm 15,7$.

Leão et al. (2012) ao estudar as características do sêmen de garanhões da raça Mangalarga Marchador situados no município de Alegre no Espírito santo, observaram uma média de 50 mL de volume seminal. Valor próximo ao observado no presente estudo, sugerindo que o fato de o clima do município de Alegre apresentar-se próximo ao clima da região Norte do Estado do Rio de Janeiro os animais de ambos os estudos foram submetidos a condições climáticas semelhantes apresentando médias similares de volume seminal.

Veronesi et al. (2010) ao estudar garanhões na Itália, observaram uma média de volume seminal ($65,0 \pm 13,16$ mL) maior que a média encontrada no

presente trabalho. Pode-se sugerir que a diferença nos resultados tenha ocorrido devido à diferença entre raças estudadas, assim como diferença climática a que os garanhões foram submetidos.

Com relação ao volume seminal em relação à coleta, não foram observadas grandes diferenças nas médias.

As médias de volume seminal não foram diferentes entre a estação reprodutiva 1 e 2. Considerando que as estações reprodutivas (1 e 2) do presente estudo correspondem com os períodos de chuva (verão) e seca (outono), respectivamente. Corroboram com os resultados observados por Ribas (2006) em que o volume seminal não variou entre a estação seca e chuvosa. No entanto, discordando com os resultados encontrados por Freitas (2010), que observou aumento progressivo no volume espermático entre o outono e o verão (30,2 a 73,1 mL). No entanto, essa característica é variável entre os estudos, havendo registros de maiores volumes na primavera e menores no inverno com os resultados observados por Robalo Silva et al., (2007), e valores máximos no verão e mínimos no inverno de acordo com resultados observados por (Janett et al., 2003).

Pose-se explicar essas diferenças nas médias de volume seminal em função das diferentes raças estudadas, frequência na coleta de sêmen, estímulo do garanhão à presença da égua em estro (Robalo Silva et al., 2007), e pelo clima.

Sendo assim, como a temperatura na região onde o presente estudo foi conduzido não sofre grandes variações, mantendo-se quente todo o ano, pode-se sugerir que os garanhões são manejados nas mesmas condições climáticas durante todo o ano e o volume seminal não apresentou diferença (Tabela 1).

Em relação à idade dos animais, o volume espermático apresentou média menor em animais jovens em relação aos adultos. Concordando com os resultados encontrados por Ribas (2006), que observou que os cavalos mais jovens apresentavam menores volumes seminais em comparação com os adultos.

A média geral da concentração espermática observada no presente trabalho foi $456,4 \pm 489,6 \times 10^6/\text{mL}$, superior à média observada por Freitas (2010), que ao estudar as características seminais de cavalos da raça Mangalarga Marchador em Viçosa no estado de Minas Gerais, observou média de concentração espermática foi de $311,8 \pm 148,3 \times 10^6/\text{mL}$; Ribas (2006) ao estudar as características seminais de garanhões da raça Pantaneira, encontrou valor médio de

207,71 ± 5,25 x 10⁶/mL, e Veronesi et al, (2010) observaram uma média de concentração espermática de 243,3 ± 56,25 x10⁶/mL em cavalos criados na Itália.

No presente trabalho foi verificado diferença nas médias de concentração espermática entre a primeira coleta e a coleta 5. No entanto, as médias entre estações não foram diferentes, concordando com Robalo e Silva et al. (2007) e Wrench et al. (2010), que também não observaram diferenças na concentração espermática entre ejaculados nas diferentes estações reprodutivas. Entretanto, Freitas (2010) observou em cavalos da raça Mangalarga Marchador, maior média de concentração espermática no outono.

Segundo Sieme et al. (2004), um fato importante que pode ser explicado pela divergência nos resultados é que a concentração espermática pode variar dependendo do intervalo entre coletas. Sendo assim, quando se faz comparações entre trabalhos e autores que utilizam diferentes intervalos entre coletas os resultados podem variar muito.

Em relação à idade dos garanhões, a concentração espermática em animais jovens apresentou maior variabilidade.

O número total de espermatozoides apresentou média geral de 17,9 ± 25,3 x10⁹ apresentando-se próxima à maior média de NTSTZ observada por Freitas (2010) em cavalos da raça Mangalarga Marchador.

As médias de NTSTZ não variaram entre estação reprodutiva, concordando com Freitas (2010), que também observou que não houve diferença no NTSTZ durante as estações do ano (Tabela 1).

Segundo Leme (2003), o aumento no número total de espermatozoides durante a estação reprodutiva nas altas latitudes do hemisfério norte pode ser explicado pelo aumento da luminosidade nesses locais, o que gera um sinal para os animais com reprodução sazonal de que está na época da reprodução. Contudo, no Brasil, essas diferenças sazonais e o fotoperíodo não são tão expressivos como no hemisfério Norte. Sendo assim, pode sugerir que não foram encontradas diferenças no NTSTZ no presente trabalho devido ao fato do estudo ter sido conduzido em uma região onde as diferenças sazonais não são muito evidentes.

Em relação à idade dos garanhões, o NTSTZ foi menor em animais jovens em comparação com os garanhões adultos. Johnson e Neaves, (1981) observaram o aumento do número de espermatozoides produzidos diariamente em

garanhões à medida que aumenta a idade dos animais. Os mesmos autores também observaram que à medida que aumenta a idade dos garanhões, aumentam o número de células de Leyding e as proporções de parênquima testicular e túbulo seminíferos (aumento de diâmetro e comprimento). As células de Leyding produzem testosterona, e esse hormônio exerce função reguladora da espermatogênese (HAFEZ E HAFEZ, 2004). No epitélio do túbulo seminífero estão presentes as células germinativas que dão origem aos espermatozoides (HAFEZ E HAFEZ, 2004). Sendo esses componentes os principais responsáveis pela produção espermática, sugere-se que o aumento dos mesmos com a idade proporciona aumento na produção de espermatozoides.

Para a motilidade total foi encontrada média geral de $(73,8 \pm 14,7 \%)$, apresentando-se dentro dos padrões recomendados por Henry e Neves (1998). Os valores de médias encontrados para motilidade nesse trabalho são bem próximos às médias observadas por Freitas (2010) $(74,6 \pm 6,9 \%)$ ao avaliar a qualidade espermática de cavalos da raça Mangalarga Marchador. Veronesi et al. (2010) também observaram uma média de motilidade espermática total de garanhões de $73,9 \pm 6,7 \%$ próxima à descrita no presente trabalho (Tabela 1).

A média da motilidade espermática dos animais experimentais não variou muito individualmente, exceto um animal que apresentou motilidade igual a 30%, pois foi submetido a tratamento com anti-inflamatório após sofrer uma lesão no membro durante um transporte entre cidades. Horn et al. (1999) observaram que a aplicação de altas doses de Dexametazona induziram a degeneração testicular em touros, e que as médias de motilidade espermática normais apresentaram decréscimo significativo no segundo dia após o início do tratamento com o anti-inflamatório.

Em relação a idade dos garanhões, a motilidade e vigor espermático não apresentaram diferenças entre garanhões jovens e adultos.

Discordando com Ribas (2006), que observou diferenças significativas na motilidade espermática entre animais de idades diferentes, em que os mais velhos apresentavam menores médias em relação aos mais jovens. No entanto, o mesmo autor atribuiu essa diferença às condições de manejo, às variações de ambiente (temperatura e umidade), às mudanças hormonais e aos constituintes do plasma

seminal. Fato que pode sugerir a diferença com os resultados encontrados no presente trabalho.

Outros autores (Janett et al., 2003; Silva, 2007; Freitas, 2010) também observaram diferenças significativas da motilidade nas diferentes estações do ano. Os mesmos relataram que as diferenças estacionais na motilidade espermática podem ser influenciadas também pelo manejo dos animais, frequência de coletas de sêmen e condições ambientais, como temperatura e umidade.

Tabela 1. Médias e desvio padrão das características seminais pH, volume espermático sem fração gel, concentração espermática por mL, número total de espermatozoides (NTSTZ), motilidade espermática total e vigor espermático de cavalos da raça Mangalarga Marchador em relação à coleta, categoria de idade e estação reprodutiva (ER).

Efeito	PH	Volume (mL)	Concent (x10 ⁶ /mL)	NTSTZ (x10 ⁹)	Motilidade (%)	Vigor
Coleta						
1	7,0 ± 0,0 ^b	52,5 ± 33,0 ^{ab}	1233,7 ± 1316,9 ^a	37,9 ± 12,2 ^{ab}	73,7 ± 13,8 ^a	4,2 ± 0,5 ^a
2	7,0 ± 0,0 ^b	60,8 ± 28,2 ^a	649,2 ± 553,7 ^{ab}	46,44 ± 6,7 ^a	75,0 ± 17,3 ^a	3,5 ± 0,6 ^a
3	7,1 ± 0,2 ^b	30,1 ± 18,2 ^b	272,5 ± 128,6 ^b	7,8 ± 5,3 ^b	75,0 ± 16,4 ^a	3,5 ± 0,5 ^a
4	7,2 ± 0,3 ^{ab}	38,0 ± 41,1 ^{ab}	319,0 ± 201,4 ^b	7,4 ± 4,2 ^b	75,0 ± 11,9 ^a	4,5 ± 0,5 ^a
5	7,6 ± 0,5 ^a	50,5 ± 30,5 ^{ab}	278,7 ± 224,9 ^b	10,2 ± 7,0 ^b	71,5 ± 19,0 ^a	4,3 ± 1,0 ^a
Idade						
Jovem	7,2 ± 0,4 ^a	29,0 ± 13,6 ^b	586,2 ± 750,8 ^a	13,3 ± 11,5 ^a	70,9 ± 18,5 ^a	3,9 ± 0,8 ^a
Adulto	7,2 ± 0,3 ^a	56,8 ± 36,9 ^a	352,5 ± 323,0 ^a	21,6 ± 37,2 ^a	76,7 ± 12,2 ^a	4,2 ± 0,8 ^a
ER						
1	7,1 ± 0,2 ^b	42,7 ± 32,6 ^a	507,1 ± 615,9 ^a	20,1 ± 32,2 ^a	73,7 ± 15,2 ^a	4,1 ± 0,8 ^a
2	7,6 ± 0,5 ^a	50,0 ± 30,5 ^a	278,7 ± 224,9 ^a	10,2 ± 7,0 ^a	76,2 ± 17,3 ^a	4,0 ± 0,9 ^a

Letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença estatística entre as médias (p<0.05).

Na tabela 2 estão apresentadas as médias das variáveis de motilidade espermática em relação a coleta, idade e estação reprodutiva, de cavalos da raça Mangalarga Marchador.

Com relação às análises feitas com o programa Hamilton[®], as médias das variáveis Motilidade total e motilidade progressiva do sêmen dos garanhões da raça Mangalarga Marchador, não foram diferentes entre as coletas, entre animais jovens e adultos e entre estação reprodutiva.

Os resultados apresentados nesse trabalho são próximos aos resultados observados por Freitas (2010) para motilidade total 73,0 ± 2,87 e motilidade

progressiva $47,0 \pm 2,67$ ao analisar o sêmen de cavalos da raça Mangalarga Marchador com o programa Hamilton®.

Segundo Matos et al. (2008), é importante realizar a análise computadorizada, devido ao fato da motilidade ter relevância na determinação do potencial de fertilidade dos espermatozoides, sendo proposta e aplicada na tentativa de minimizar os efeitos da avaliação convencional do sêmen.

Segundo Matos et al. (2008), as variáveis de motilidade obtidas com a análise computadorizada, apresentam alta correlação com a fertilidade. Sugerindo que, pode-se prever a taxa de fertilização, também relatado por Ferreira et al, (1997).

Tabela 2. Médias e desvio padrão das variáveis motilidade total (MotTT) e motilidade progressiva (MotPr), em relação à coleta, idade e estação reprodutiva (ER), de cavalos da raça Mangalarga Marchador.

Efeito	MotTT	MotPr
Coleta		
1	$70,7 \pm 31,9^a$	$46,5 \pm 33,1^a$
2	$50,5 \pm 19,7^a$	$39,0 \pm 19,3^a$
3	$68,6 \pm 17,47^a$	$47,5 \pm 17,4^a$
4	$84,2 \pm 10,5^a$	$49,9 \pm 17,5^a$
5	$79,5 \pm 19,0^a$	$50,7 \pm 18,7^a$
Idade		
Jovem	$70,2 \pm 25,3^a$	$45,8 \pm 26,7^a$
Adulto	$77,8 \pm 17,4^a$	$48,6 \pm 13,6^a$
ER		
1	$74,4 \pm 20,1^a$	$47,9 \pm 19,4^a$
2	$77,2 \pm 25,9^a$	$45,3 \pm 23,4^a$

letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença estatística entre as médias ($p < 0,05$).

Na tabela 3 estão apresentadas as médias de cinética espermática em relação à coleta, idade e estação reprodutiva, de garanhões da raça Mangalarga Marchador.

As médias das variáveis de cinemática espermática VAP, VSL não sofreram variação entre as coletas, idade dos animais e estação reprodutiva.

Foi observada pequena diferença na variável ALH nos animais adultos, no entanto não foi suficiente para afetar as características de velocidade e

motilidade, uma vez que a característica ALH elevada, não é desejável por afetar a progressão celular e com isso denota uma menor qualidade da amostra seminal (ARRUDA et al., 2003).

Apesar da diferença nas médias de ALH entre jovens e adultos, a menor média observada foi para animais jovens. No entanto, esse resultado, apresentou-se maior que o resultado encontrado por Nascimento, (2006) que observou média de $2,8 \pm 0,7 \mu\text{m}$ para ALH em garanhões sem raça definida criados em Pirassununga no estado de São Paulo.

As médias de cinética espermática encontradas no presente estudo apresentam-se próximas às médias observadas por outros autores (Nascimento, 2006; Silva, 2010; Sturhtmann et al., 2012) ao analisarem o sêmen de garanhões pelo método de análise computadorizada.

Alguns valores observados nas análises computadorizadas, foram correlacionados por alguns autores (FENUX et al., 1985; MORTIMER et al., 1986) com eventos fisiológicos, quando observaram que os resultados de cinética do espermatozoide no sêmen de humanos caracterizado por motilidade altamente progressiva e um significativo movimento lateral de cabeça foram correlacionados com a habilidade de penetrar no muco cervical presente no trato reprodutivo da fêmea.

Verstegen et al, (2002) utilizaram as variáveis cinéticas VCL e VAP para prever a capacidade de fertilização, visto que estas características sofrem aumento após a capacitação espermática.

Diante das associações de cinética espermática e fertilização, realizadas por Fenux et al. (1985), Mortimer et al. (1986) Verstegen et al. (2002) ao analisarem o sêmen de humanos com o método computadorizado, sugere-se que no presente estudo, os valores das características cinéticas apresentam-se como bons resultados para qualidade seminal dos garanhões da raça Mangalarga Marchador.

Tabela 3. Médias e desvio padrão das variáveis de cinemática espermática: velocidade do trajeto (VAP), velocidade progressiva (VSL), velocidade curvilínea (VCL), amplitude lateral da cabeça (ALH), frequência de batimentos (BCF), retidão (STR) e linearidade (LIN), obtidas de cavalos da raça Mangalarga Marchador em relação à coleta, idade e estação reprodutiva (ER).

Efeito	VAP	VSL	VCL	ALH	BCF	STR	LIN
Coleta							
1	84,3 ± 45,2 ^a	69,3 ± 35,8 ^a	138,8 ± 73,5 ^a	5,6 ± 1,6 ^a	31,1 ± 6,5 ^{ab}	83,2 ± 7,2 ^{ab}	51,2 ± 9,4 ^{ab}
2	81,7 ± 27,1 ^a	70,6 ± 24,7 ^a	136,3 ± 44,0 ^a	5,5 ± 1,6 ^a	37,7 ± 1,6 ^a	86,5 ± 1,7 ^a	53,5 ± 4,0 ^a
3	85,7 ± 17,4 ^a	70,2 ± 15,6 ^a	143,9 ± 25,5 ^a	5,4 ± 0,8 ^a	35,9 ± 2,0 ^{ab}	82,0 ± 5,1 ^{ab}	50,8 ± 5,3 ^{ab}
4	91,5 ± 26,9 ^a	70,6 ± 20,8 ^a	162,7 ± 46,4 ^a	6,9 ± 1,2 ^a	31,0 ± 5,0 ^{bc}	77,8 ± 4,1 ^b	45,2 ± 3,2 ^b
5	88,3 ± 19,3 ^a	67,9 ± 15,9 ^a	157,0 ± 30,2 ^a	6,5 ± 0,8 ^a	30,5 ± 3,8 ^{bc}	76,7 ± 3,6 ^b	44,5 ± 3,2 ^b
Idade							
Jovem	75,7 ± 28,1 ^a	61,6 ± 24,2 ^a	129,3 ± 43,0 ^b	5,7 ± 0,8 ^b	32,8 ± 5,1 ^a	82,2 ± 5,2 ^a	49,5 ± 6,5 ^a
Adulto	91,4 ± 21,3 ^a	71,2 ± 16,0 ^a	162,5 ± 37,2 ^a	6,7 ± 1,2 ^a	30,9 ± 4,7 ^a	77,8 ± 4,8 ^b	45,4 ± 3,9 ^b
ER							
1	87,3 ± 24,2 ^a	69,5 ± 19,8 ^a	151,1 ± 40,8 ^a	6,2 ± 1,2 ^a	32,6 ± 4,7 ^b	80,0 ± 5,4 ^{ba}	47,8 ^a ± 5,7 ^a
2	74,6 ± 28,0 ^a	57,4 ± 19,9 ^a	137,1 ± 50,7 ^a	6,7 ± 0,9 ^a	28,2 ± 4,2 ^a	78,6 ± 5,4 ^a	44,4 ^a ± 3,6 ^a

letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença estatística entre as médias ($p < 0.05$).

Paint Horse

Na tabela 4 estão apresentadas as médias das características físicas do sêmen de cavalos da raça Paint Horse.

A média geral de pH observada no presente estudo foi de $7,6 \pm 0,5$. A média para essa variável foi próxima ao resultado encontrado por Veronesi et al, (2010) ao estudar garanhões na Itália, que encontraram uma média para pH de $7,7 \pm 0,1$.

A média geral de pH encontrada no presente estudo, encontra-se dentro dos valores de pH observados para equinos, que segundo Henry e Neves (1998) variam de 6,8 a 7,6. Sugerindo que o sêmen dos garanhões da raça Paint Horse do presente estudo apresenta boa qualidade em relação ao pH, pois segundo Salisbury e Vandermaek, o pH do sêmen tende a neutralidade. Segundo Fair e Cordonnier, (1978), o aumento do pH pode sugerir a presença de infecção. Franco Junior (1997) relatou que o pH seminal abaixo do normal, sugere alguma patologia ligada às vesículas seminais.

Foi encontrada uma média geral de volume seminal de $14,5 \pm 2,2$. As coletas de sêmen de cavalos da raça Paint Horse do presente trabalho, foram realizadas nos meses de março e abril no período durante a estação reprodutiva. Esse resultado observado no presente estudo é considerado baixo, ao compará-lo aos valores de volume espermático observado em outros estudos. Santos et al, (2011) ao avaliar as características seminais de cavalos da raça Quarto de Milha criados no Paraná, observaram médias de volume seminal variando de 42 a 55 mL, nos meses de março e abril. Freitas (2010) observou médias de volume seminal de 35,8 mL em nos meses de março e abril.

Freitas (2010), relatou que a influência do ambiente parece ocorrer de maneira inversa para o volume seminal, ou seja quanto maior a temperatura, foi observado menor volume seminal.

Segundo Lopate, (2003), o volume seminal é aproximadamente 40% maior durante a estação reprodutiva do que fora da estação reprodutiva. No presente trabalho foram feitas observações para essa característica apenas durante a estação reprodutiva.

O baixo valor de volume seminal do presente trabalho comparando com os outros trabalhos, pode se explicar pelo fato de terem sido realizadas poucas observações, não podendo então, predizer por esses resultados que os cavalos da raça Paint Horse apresentam volume seminal menor em comparação com outras raças. No Brasil, há poucos relatos na literatura sobre a qualidade seminal de cavalos da raça Paint Horse.

Em geral, as médias das características observadas dos garanhões da raça Paint Horse, não foram diferentes entre as duas coletas. Fato que pode ser explicado por estas coletas terem sido realizadas apenas no período referente à estação reprodutiva. Sendo assim, como na região norte do estado do Rio de Janeiro não há muitas variações climáticas, principalmente nos meses considerados como estação reprodutiva, as características seminais dos garanhões não sofreram com efeito sazonal.

As médias de motilidade e vigor do presente estudo são próximas às médias observadas por Grenemann (2006), que observou 80% de motilidade espermática e valores de 4 a 5 de vigor espermático em cavalos da raça Quarto de milha e Apaloosa.

A média geral de concentração espermática observada no presente estudo foi de $226,2 \pm 107,6$.

Santos et al, (2011) observaram uma média concentração espermática de cavalos da raça Quarto de Milha de 200×10^6 nos meses de abril e maio. Morrel et al, (2008) observaram médias de concentração espermática de 162 a 356×10^6 em garanhões adultos (>7 anos de idade).

Apesar de poucas observações realizadas da variável concentração espermática para cavalos da raça Paint Horse, pode-se observar que os resultados do presente trabalho encontram-se próximos aos resultados relatados em outros estudos.

A média geral de NTSTZ dos garanhões da raça Paint Horse, observada no presente trabalho foi de $3,3 \times 10^9$, em função do baixo volume de sêmen coletado.

Candeias, (2010) encontrou média de $6,4 \times 10^9$ NTSTZ em garanhões da raça Mangalarga Marchador. Graneman, (2006) observou uma média de NTSTZ ($14,5$ e 28×10^9) no sêmen de cavalos da raça Quarto de Milha criados no Paraná.

Sieme et al, (2004) relataram que a divergência nos resultados entre estudos diferentes é que a concentração espermática pode variar dependendo do intervalo entre coletas. Sendo assim, quando se faz comparações entre trabalhos e autores que utilizam diferentes intervalos entre coletas os resultados podem variar muito.

Tabela 4. Médias e desvio padrão das características seminais pH, Volume espermático, Motilidade espermática total, vigor espermático, concentração espermática e número total de espermatozoides (NTSTZ), de cavalos da raça Paint Horse em relação à coleta, categoria de idade e estação reprodutiva (ER).

Efeito	pH	Volume (mL)	Motilidade (%)	Vigor	Concent (x10 ⁶ /mL)	NTSTZ (x10 ⁹)
Coleta						
1	$7,5 \pm 0,7^a$	$11,0 \pm 1,4^a$	$80,0 \pm 14,1^a$	$4,5 \pm 0,7^a$	$260,0 \pm 77,8^a$	$2,9 \pm 1,2^a$
2	$7,7 \pm 0,3^a$	$18,0 \pm 2,8^a$	$85,0 \pm 0,1^a$	$4,5 \pm 0,7^a$	$192,5 \pm 130,8^a$	$3,6 \pm 2,8^a$
Idade						
Adulto	$7,6 \pm 0,5$	$14,5 \pm 4,4$	$82,5 \pm 9,5$	$4,5 \pm 0,6$	$226,2 \pm 96,1$	$3,3 \pm 1,8$
ER						
1	$7,6 \pm 0,5$	$14,5 \pm 4,4$	$82,5 \pm 9,6$	$4,5 \pm 0,6$	$226,2 \pm 96,1$	$3,3 \pm 1,8$

letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença estatística entre as médias ($p < 0.05$).

Na tabela 5 estão apresentadas as médias das variáveis de motilidade total e motilidade progressiva realizadas com análise computadorizada.

Os valores de motilidade total e progressiva dos cavalos da raça Paint Horse, analisados no programa Hamilton[®] não variaram entre coletas. Como também foi observado em cavalos da raça Mangalarga Marchador no presente estudo. No entanto, as médias observadas para a raça Paint Horse foram maiores que as médias registradas para animais da raça Mangalarga Marchador adultos (MotTT: 77,8 ± 17,4 e MotPr: 48,6 ± 13,6). Freitas (2010) observou médias para motilidade total 73,0 ± 2,87 e motilidade progressiva 47,0 ± 2,67 do sêmen de cavalos da raça Mangalarga Marchador.

No presente estudo foram observados altos valores para as características de motilidade total e motilidade progressiva, apresentando bom resultado, pois, segundo Feneux et al, (1985) e Mortimer et al, (1986) a motilidade é uma característica de grande importância por estar relacionada com a capacidade de fertilização.

Tabela 5. Médias e desvio padrão das variáveis motilidade total (MotTT) e motilidade progressiva (MotPr), obtidas de cavalos da raça Paint Horse, observadas no programa Hamilton[®].

Efeito	MotTT	MotPr
Coleta		
1	93,0 ± 11,0 ^a	63,5 ± 2,1 ^a
2	93,5 ± 1,4 ^a	56,5 ± 3,5 ^a
Idade		
Adulto	93,0 ± 0,8	60,0 ± 4,7
Estação		
1	93,0 ± 0,8	60,0 ± 4,7

letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença estatística entre as médias (p<0.05).

Na tabela 6 estão apresentadas as médias das características de cinética espermática de cavalos da raça Paint Horse.

As médias das variáveis de cinética espermática em geral não variaram com relação à coleta de sêmen de garanhões da raça Paint Horse (Tabela 6). Corroborando com os resultados encontrados no presente estudo ao avaliar as variáveis de cavalos da raça Mangalarga Marchador.

Os resultados apresentados no presente trabalho de cinética espermática, foram próximos aos resultados observados em outros trabalhos (Nascimento, 2006; Silva, 2010; Sturhtmann et al., 2012). Sendo assim, sugere-se que os valores de

cinemática espermática dos cavalos da raça Paint horse do presente estudo, apresentam-se dentro do esperado.

Tabela 6. Médias e desvio padrão das variáveis de cinemática espermática: velocidade do trajeto (VAP), velocidade progressiva (VSL), velocidade curvilínea (VCL), amplitude lateral da cabeça (ALH), frequência de batimentos (BCF), retidão (STR) e linearidade (LIN), obtidas de cavalos da raça Paint Horse.

Efeito	VAP	VSL	VCL	ALH	BCF	STR	LIN
Coleta							
1	98,2 ± 6,7 ^a	77,4 ± 6,5 ^a	170,2 ± 4,5 ^a	6,6 ± 0,5 ^a	26,1 ± 1,2 ^a	77,2 ± 3,2 ^a	46,2 ± 4,4 ^a
2	89,0 ± 18,1 ^a	66,3 ± 10,2 ^a	160,3 ± 36,0 ^a	6,9 ± 1,1 ^a	26,7 ± 2,4 ^a	74,5 ± 6,7 ^a	43,5 ± 6,0 ^a
Idade							
Adulto	93,4 ± 12,3 ^a	71,8 ± 9,0 ^a	165,5 ± 22,2 ^a	6,5 ± 0,7 ^a	26,9 ± 1,7 ^a	76,8 ± 4,8 ^b	45,4 ± 4,9 ^b
ER							
1	93,4 ± 12,3 ^a	71,8 ± 9,0 ^a	165,5 ± 22,2 ^a	6,5 ± 0,7 ^a	26,9 ± 1,7 ^a	76,8 ± 4,8 ^b	45,4 ± 4,9 ^b

letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença estatística entre as médias (p<0.05).

Quarto de Milha

Na tabela 7 estão apresentadas as médias das características físicas do sêmen de cavalos da raça Quarto de Milha.

Em geral, as médias das características seminais dos cavalos da raça Quarto de Milha não variaram entre as coletas.

A média geral de pH observada no presente estudo para cavalos da raça Quarto de Milha foi 7,3 ± 0,4, apresentando-se próxima aos valores de pH relatados na literatura para garanhões (HENRY e NEVES, 1998; RIBAS, 2006; VERONESI et al., 2010).

O valor de pH de cavalos da raça Quarto de Milha do presente estudo, apresentou-se próximo à média de pH observada no sêmen dos cavalos da raça Mangalarga Marchador e Paint Horse, também verificadas no presente estudo.

Pode-se sugerir que o pH não varia de acordo com as raças e idade dos animais, tendendo sempre a ser básico.

A média geral de volume seminal dos cavalos da raça Quarto de Milha do presente estudo foi de 19,4 ± 7,0. Ligeiramente maior, comparando com o volume

espermático dos cavalos da Raça Paint Horse do presente estudo. Mesmo assim ao comparar com valores encontrados em outros trabalhos, pode-se observar que a média para essa característica encontra-se baixa.

O volume espermático, foi mais próximo às médias das mesmas variáveis observadas para a raça Paint Horse. O volume espermático foi menor para essas duas raças em comparação com a raça Mangalarga Marchador, assim como a concentração espermática e NTSTZ. Pode-se sugerir que essas diferenças devem-se ao fato de haver poucas observações para as raças Paint Horse e Quarto de Milha. As coletas de sêmen e análise do presente estudo foram realizadas nos meses de março e abril, período este, durante a estação reprodutiva e estação do ano outono.

Santos et al. (2011) ao avaliar as características seminais de cavalos da raça Quarto de Milha criados no Paraná, observaram médias de volume seminal variando de 42 a 55 mL, nos meses de março e abril. Apesar dos mesmos autores terem estudado a mesma raça estudada no presente trabalho, os valores de volume seminal foram diferentes.

As características de motilidade e vigor apresentaram médias gerais de $67,5 \pm 13,0$ e $4,2 \pm 0,4$.

Santos et al. (2011) observaram média de motilidade espermática total de 67% em cavalos da raça Quarto de Milha nos meses de março e abril. Grenemann (2006), que observou valores de 70 a 80% de motilidade espermática e 4,5 de vigor espermático em cavalos da raça Quarto de milha e Apaloosa. Veronesi et al, (2010) também observaram uma média de motilidade espermática total de garanhões de $73,9 \pm 6,7$ %. Os valores de motilidade e vigor espermático encontrados na literatura variam de 70 a 80% e 4 a 5, respectivamente. Sendo essa uma característica que não tem muita variação entre raças diferentes. Ribas (2006) relatou que essas características sofrem influência do manejo, das variações ambientais e hormonais.

A média geral para a característica concentração espermática observada no presente estudo foi de $280,2 \pm 206,1$.

Santos et al. (2011) encontraram valores de concentração espermática de 199×10^6 . Candeias (2010), observou uma média de concentração espermática de $228,9 \pm 136,5 \times 10^6$ ao avaliar o sêmen de cavalos da raça Mangalarga Marchador.

Robalo Silva et al. (2007) observaram uma média de concentração espermática de $137,6 \pm \times 10^6$ ao estudar cavalos da raça Lusitano no outono.

A concentração espermática observada no presente estudo apresentou-se maior em comparação com as médias observadas por outros autores. Sieme et al, (2004) relataram que essas diferenças observadas entre estudos podem ser observadas devido ao diferente intervalo de entre coletas realizado em diferentes trabalhos.

A média geral de NTSTZ observada no presente estudo foi de $5,0 \pm 3,8 \times 10^9$.

Santos et al, (2011) ao avaliar o sêmen de cavalos da raça Quarto de Milha, observaram uns valores de NTSTZ variando de $8,5 \times 10^9$ a $10,5 \times 10^9$.

A média de NTSTZ do presente estudo apresentou-se menor comparando-se com resultados da literatura, devido ao fato da baixa média de volume seminal, já que para se obter os valores de NTSTZ no presente estudo, a concentração espermática foi calculada com o volume seminal de cada garanhão do experimento.

Tabela 7. Médias e desvio padrão das características seminais pH, Volume espermático, Motilidade espermática, vigor espermático, concentração espermática e número total de espermatozoides (NTSTZ), de cavalos da raça Quarto de Milha em relação à coleta, idade e estação reprodutiva (ER).

Efeito	pH	Volume (mL)	Motilidade (%)	Vigor	Concent (x10 ⁶ /mL)	NTSTZ (x10 ⁹)
Coleta						
1	7,3 ± 0,6 ^a	16,0 ± 6,5 ^a	71,6 ± 12,1 ^a	4,3 ± 0,5 ^a	240,0 ± 211,8 ^a	3,2 ± 1,8 ^a
2	7,2 ± 0,3 ^a	24,0 ± 4,9 ^a	60,0 ± 14,1 ^a	4,0 ± 0,0 ^a	342,5 ± 261,8 ^a	7,7 ± 4,7 ^a
Idade						
Jovem	7,3 ± 0,5 ^a	20,5 ± 7,6 ^a	68,7 ± 14,3 ^a	4,2 ± 0,5 ^a	330,0 ± 200,4 ^a	5,9 ± 3,4 ^a
Adulto	7,0 ± 0,4 ^a	15,5 ± 6,4 ^a	60,5 ± 7,5 ^a	4,0 ± 0,3 ^a	80,2 ± 36,2 ^a	1,2 ± 0,7 ^a
ER						
1	7,3 ± 0,4	19,4 ± 7,0	67,5 ± 13,0	4,2 ± 0,4	280,2 ± 206,1	5,0 ± 3,8

letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença estatística entre as médias (p<0.05).

Na tabela 8 estão apresentadas as médias das variáveis de motilidade total e progressiva realizadas por análise computadorizada.

As variáveis de motilidade total e progressiva do sêmen de cavalos da raça Quarto de Milha no presente trabalho, analisadas no programa Hamilton[®]

apresentaram médias menores que as médias observadas para a raça Paint Horse, no entanto foram mais próximas as médias observadas nos cavalos da raça Mangalarga Marchador, ambas do presente trabalho.

A motilidade total não variou entre animais jovens e adultos, no entanto, foi observada diferença entre as médias de idades para a variável motilidade progressiva, em quem os animais jovens obtiveram maior média. Discordando com Neto (2011), que ao estudar as características seminais de cavalos da raça Quarto de Milha, verificou que à medida que aumenta a idade dos animais, aumenta a média de motilidade progressiva. Esses resultados podem ser justificados pelo baixo número de animais avaliados no presente estudo.

Tabela 8. Médias e desvio padrão das variáveis motilidade total (MotTT) e motilidade progressiva (MotPr), obtidas de cavalos da raça Quarto de Milha, observadas no programa Hamilton[®].

Efeito	MotTT	MotPr
Coleta		
1	84,0 ± 1,7 ^a	53,3 ± 11,5 ^a
2	87,0 ± 7,4 ^a	48,0 ± 1,4 ^a
Idade		
Adulto	86,0 ± 0,7 ^a	40,0 ± 4,4 ^b
Jovem	85,0 ± 4,7 ^a	54,0 ± 7,0 ^a
Mês		
1	85,2 ± 4,0	51,2 ± 8,7

Letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença estatística entre as médias ($p < 0.05$).

Na tabela 9 estão apresentadas as médias das características de cinética espermática do sêmen de cavalos da raça Quarto de Milha.

As médias das variáveis de cinemática espermática em geral não variaram com relação à coleta de sêmen de garanhões da raça Quarto de Milha (Tabela 9). Corroborando com os resultados encontrados no presente estudo ao avaliar as variáveis de cavalos das raças Mangalarga Marchador e Paint Horse.

Os valores de cinética espermática do sêmen de cavalos da raça Quarto de Milha, observados no presente estudo, apresentam-se próximos aos valores encontrados por outros autores (Nascimento, 2006; Silva, 2010; Sturthmann et al.,

2012). Sugerindo que esses resultados obtidos no presente estudo estão dentro da normalidade para características de cinética espermática.

Tabela 9. Médias e desvio padrão das variáveis de cinemática espermática: velocidade do trajeto (VAP), velocidade progressiva (VSL), velocidade curvilínea (VCL), amplitude lateral da cabeça (ALH), frequência de batimentos (BCF), retidão (STR) e linearidade (LIN), obtidas de cavalos da raça Quarto de Milha.

Efeito	VAP	VSL	VCL	ALH	BCF	STR	LIN
Coleta							
1	113,2 ± 15,7 ^a	89,6 ± 18,5 ^a	192,5 ± 29,5 ^a	7,0 ± 1,0 ^a	27,9 ± 1,4 ^a	76,2 ± 7,5 ^a	47,2 ± 9,4 ^a
2	101,0 ± 38,1 ^a	74,3 ± 23,2 ^a	181,3 ± 73,0 ^a	7,4 ± 1,3 ^a	27,7 ± 2,4 ^a	72,5 ± 3,5 ^a	41,5 ± 2,6 ^a
Idade							
Joven	109,6 ± 9 ^a	86,5 ± 20,7 ^a	186,3 ± 49,0 ^a	6,9 ± 1,3 ^a	23,9 ± 1,4 ^a	77,5 ± 5,5 ^a	46,5 ± 6,6 ^a
Adulto	102,4 ± 11,3 ^a	70,8 ± 8,0 ^a	192,5 ± 28,5 ^a	8,0 ± 1,0 ^a	26,9 ± 1,7 ^a	67,2 ± 7,5 ^a	37,2 ± 8,4 ^a
ER							
1	108,4 ± 22,3 ^a	83,8 ± 19,0 ^a	188,5 ± 42,2 ^a	7,2 ± 1,2 ^a	27,8 ± 3,4 ^a	75,8 ± 6,8 ^b	44,4 ± 4,9 ^b

letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença estatística entre as médias (p<0.05).

Morfologia espermática de cavalos da raça Mangalarga Marchador

As médias gerais encontradas para defeitos espermáticos do sêmen de cavalos da raça Mangalarga Marchador foram de 19,4 ± 19,8 para defeitos maiores (Dmai), 13,0 ± 7,1 para defeitos menores (Dmen) e 32,4 ± 20,8 para defeitos totais (DTT).

As médias gerais de defeitos espermáticos analisados no presente trabalho encontram-se dentro do padrão sugerido por Henry e Neves (1998), que consiste em até 30 % de defeitos totais e até 20 % de defeitos maiores.

Na tabela 10 estão apresentadas as médias das variáveis defeitos espermáticos de garanhões da raça Mangalarga Marchador.

As médias de Dmai não variaram entre coletas, no entanto pode-se observar um decréscimo nos valores para essa característica da coleta 1 até a coleta 6 para essa variável.

Foi observada diferença nas médias de Dmen entre coleta, havendo um decréscimo nos valores dessa variável nas coletas consecutivas.

Ao verificar as médias de DTT entre coletas, observou-se que a primeira e segunda coleta apresentaram valores maiores que o sugerido por Henry e Neves, (1998), para defeitos maiores e defeitos totais.

Pode-se observar, decréscimo nas médias de DTT da coleta 1 até a coleta 6.

Não foi observada diferença nas médias de defeitos espermáticos entre garanhões jovens e adultos. Pode-se observar que o motivo de não ter havido diferenças entre as médias para idades, se deve ao fato dos altos desvios. No entanto, pode-se observar que os adultos apresentaram menores valores em relação aos jovens para Dmai, Dmen e DTT (Tabela 10).

Também, pode-se observar diferenças nas médias de Dmai, Dmen e DTT entre o período dentro da estação reprodutiva (1), que se dá nos meses de janeiro a abril, e fora da estação reprodutiva (2), que corresponde aos meses de julho e agosto no presente estudo.

A média de defeitos totais na estação 1 apresentou-se pouco acima ($34,8 \pm 20,8$ %) do padrão desejável para seleção de equinos sugerido por Henry e Neves, (1998) que consiste em até 30% de defeitos totais, mas para defeitos maiores a média ($19,6 \pm 17,8$ %) encontrou-se dentro do padrão sugerido como aceitável por Henry e Neves, (1998) que consiste em até 20% de defeitos maiores.

Freitas (2010) não observou variações de defeitos espermática ao longo do ano em cavalos da raça Mangalarga Marchador. Robalo Silva et al. (2007) e Janett et al. (2003) observaram maiores porcentagens de defeitos espermáticos no sêmen de garanhões no verão, comparado com outono e primavera. Ribas (2006) também observou que ocorreram diferenças na percentagem de defeitos espermáticos, apresentando-se maiores na estação da cheia, que corresponde ao verão e dentro da estação reprodutiva.

No presente trabalho, a menor presença de defeitos espermáticos (Tabela 10) pode estar relacionada à melhor qualidade da espermatogênese durante a estação 2, estimulada por melhores condições ambientais como clima mais ameno na época do ano referente a julho e agosto. Essa diminuição nas médias de defeitos espermáticos pode estar relacionada à melhor qualidade da espermatogênese durante o inverno, estimulada por melhores condições ambientais, de manejo e de controle térmico do próprio testículo (ANGUS et al., 2011).

Segundo Johnson, (1985) nos garanhões há uma modulação ou regulação da produção diária de espermatozoides variando durante as estações. No entanto, os machos da espécie equina continuam com a produção de

espermatozoides no decorrer de todo o ano. O efeito sazonal na espermatogênese ocorre em função da degeneração celular durante a meiose e a modulação sazonal no número de espermatogônias do tipo A, que é duas vezes maior durante estação reprodutiva do que fora da estação reprodutiva.

Nascimento e Santos (1997) observaram que quando a temperatura e a umidade relativa estão altas a termoregulação testicular fica prejudicada, o que interfere negativamente na espermatogênese, ou seja, aumenta o número de células degeneradas durante o processo. Os resultados de Nascimento e Santos (1997) podem justificar o resultado apresentado no presente trabalho, sendo que a estação 1, foi a que apresentou maior média de defeitos espermáticos, coincide com o verão, onde o clima no Norte do Estado do Rio de Janeiro apresenta temperaturas muito elevadas.

Tabela 10. Médias e desvio padrão das características morfológicas espermáticas: defeitos maiores (Dmai), defeitos menores (Dmen) e defeitos totais (DTT), em relação à coleta, idade e estação reprodutiva de cavalos da raça Mangalarga Marchador.

Efeito	Dmai (%)	Dmen (%)	DTT (%)
Coleta			
1	28,25 ± 12,7 ^a	23,8 ± 14,3 ^a	52,1 ± 6,6 ^a
2	16,5 ± 14,0 ^a	25,5 ± 9,2 ^a	41,7 ± 16,1 ^{ab}
3	18,25 ± 20,1 ^a	15,3 ± 6,4 ^a	33,5 ± 19 ^{ab}
4	19,25 ± 20,8 ^a	5,4 ± 3,7 ^b	24,7 ± 24,1 ^{ab}
5	18,5 ± 26,8 ^a	5,4 ± 2,9 ^b	23,9 ± 26,9 ^b
Idade			
Adulto	13,6 ± 10,0 ^a	12,5 ± 11,8 ^a	26,2 ± 16,7 ^a
Jovem	26,5 ± 26,1 ^a	13,5 ± 9,2 ^a	40,0 ± 26,5 ^a
1	19,6 ± 17,8 ^a	15,1 ± 11,0 ^a	34,8 ± 20,8 ^a
2	18,5 ± 26,9 ^a	5,4 ± 2,9 ^b	23,9 ± 26,9 ^b

letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença estatística entre as médias ($p < 0.05$).

Morfologia espermática de cavalos da raça Paint Horse

Na tabela 11 estão apresentadas as médias dos defeitos espermáticos de cavalos da raça Paint Horse.

Foi observado que não houve diferença nas médias de defeitos maiores entre coletas.

Foi observada diferença significativa nas médias de Dmen e DTT da primeira coleta em relação à segunda.

Janett et al, (2003) e Robalo Silva et al. (2007) observaram variação das médias de defeitos espermáticos entre estações, com menores valores fora da estação reprodutiva.

No presente trabalho as observações foram feitas somente no período durante a estação reprodutiva, com isso não se pode verificar se há efeito da estação reprodutiva nas características de defeitos espermáticos dos cavalos da raça Paint Horse.

O valor médio de defeitos totais observado na estação reprodutiva foi pouco menor que a média observada para cavalos da raça Mangalarga Marchador do presente trabalho.

As médias de defeitos totais e defeitos maiores dos cavalos da raça Paint Horse do presente trabalho, encontram-se dentro do padrão para sêmen de equinos sugerido por Henry e Neves, (1998), que consiste em até 30 % de defeitos totais e até 20 % de defeitos maiores. Sugerindo que o sêmen dos garanhões da raça Paint Horse apresenta boa qualidade em relação aos defeitos espermáticos, mesmo os animais sendo mantidos em condições ambientais de altas temperaturas, que ocorre no Norte do Estado do Rio de Janeiro, onde se encontravam os animais durante o presente estudo.

Tabela 11. Médias e desvio padrão das características morfológicas espermáticas: defeitos maiores (Dmai), defeitos menores (Dmen) e defeitos totais (DTT), em relação à coleta, idade e estação reprodutiva (ER) de cavalos da raça Paint Horse.

Efeito	Dmai(%)	Dmen(%)	DTT(%)
Coleta			
1	14,5 ± 3,9 ^a	17,2 ± 2,4 ^a	32,0 ± 6,3 ^a
2	12,5 ± 6,3 ^a	3,7 ± 0,3 ^b	16,2 ± 6 ^b
Idade			
Adulto	13,6 ± 4,5	10,5 ± 7,9	24,1 ± 10,4
ER			
1	13,6 ± 4,5	10,5 ± 7,9	24,1 ± 10,4

Letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença estatística entre as médias ($p < 0.05$).

Morfologia espermática de cavalos da raça Quarto de Milha

Na tabela 12 estão apresentadas as médias e desvio padrão dos defeitos espermáticos de cavalos da raça Quarto de Milha.

Foi observado que não houve diferença nas médias para os defeitos espermáticos entre coletas. Diferente do resultado observado no presente trabalho para cavalos da raça Paint Horse, onde foi observada diferença dos defeitos espermáticos entre coletas. A quantidade de defeitos espermáticos não será afetada com o efeito sazonal entre coletas, possivelmente esse fato tenha ocorrido pelo pequeno número de observações para essa raça, sugerindo assim a necessidade de mais estudos para se aumentar a acurácia dos resultados de morfologia espermática de garanhões da raça Quarto de Milha criados no Norte do Estado do Rio de Janeiro.

Tabela 12. Médias e desvio padrão das características morfológicas espermáticas: defeitos maiores (Dmai), defeitos menores (Dmen) e defeitos totais (DTT), em relação à coleta, idade e estação reprodutiva de cavalos da raça Quarto de Milha.

Efeito	Dmai(%)	Dmen(%)	DTT(%)
Coleta			
1	17,3 ± 9,5 ^a	16,7 ± 8,3 ^a	33,3 ± 11,0 ^a
2	26,7 ± 17,3 ^a	6,5 ± 4,6 ^a	33,0 ± 21,9 ^a
Idade			
Adulto	8,5 ± 0,0 ^a	23,5 ± 0,0 ^a	32,0 ± 0,0 ^a
Jovem	24,5 ± 11,4 ^a	9,2 ± 6,1 ^a	33,5 ± 15,5 ^a
Estação			
1	21,1 ± 12,1	12,1 ± 8,3	33,2 ± 13,4

Letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença estatística entre as médias ($p < 0.05$).

Na tabela 13 estão apresentadas as médias das características de defeitos espermáticos.

Os defeitos espermáticos mais frequentes no presente trabalho foram cauda fortemente dobrada ou enrolada, e cauda dobrada, que são defeitos.

Segundo Downset, Osborne e Patie, (1984) os defeitos de cauda são defeitos que surgem após a ejaculação. Os defeitos como gota citoplasmática, são defeitos que surgem durante o trajeto das células, traduzindo falhas na maturação, como as gotas citoplasmáticas.

Tabela 13. Médias \pm desvio padrão (X e DP) das patologias espermáticas observadas de garanhões

Tipos de patologias espermáticas	X e DP
Defeitos Maiores	
Acrossoma	0,08 \pm 0,3
Gota protoplasmática proximal	1,9 \pm 2,5
Cabeça isolada patológica	0,1 \pm 0,4
Cabeça subdesenvolvida	0,9 \pm 1,6
Cauda enrolada na cabeça	0,2 \pm 0,7
Cabeça contorno anormal	2,9 \pm 5,1
Formas teratológicas	0,4 \pm 0,9
Pouch formation	0,1 \pm 0,4
Patologias da peça intermédia	5,8 \pm 6,6
Cauda fortemente dobrada e enrolada	23,4 \pm 34,3
Cauda dobrada com gota	2,3 \pm 3,0
Defeitos Menores	
Cabeça gigante	0,1 \pm 0,3
Retroabaxial	0,1 \pm 0,4
Cabeça isolada	2,3 \pm 3,2
Cauda dobrada ou enrolada	21,6 \pm 19,3
Gota protoplasmática distal	1,1 \pm 1,9

Repetibilidade das características seminais

As estimativas de repetibilidade para as características de qualidade do sêmen estão apresentadas na tabela 14.

As características apresentaram repetibilidade variando de 0,15 para NTSTZ a 0,65 para volume espermático. Foram observadas estimativas de repetibilidade moderada para volume, motilidade total e vigor espermático.

As estimativas de repetibilidade para as características concentração espermática e NTSTZ apresentaram baixa repetibilidade, provavelmente pela grande variação que existe entre animais e variação do mesmo animal em coletas diferentes. Segundo Johnson e Neaves, (1981) o NTSTZ varia de acordo com a idade dos garanhões. Leme (2003) relatou que o NTSTZ sofre variações de acordo com variações climáticas e de fotoperíodo. Com isso, sugere-se que a baixa repetibilidade dessa característica deve-se ao fato dela sofrer muita influência de fatores ambientais e com a idade.

Pattie e Dowsett (1982) ao realizarem a estimativa de repetibilidade para características seminais de equinos, observaram que baixa repetibilidade ($< 0,3$) foi estimada para pH, e repetibilidade moderada (0,3 a 0,6) foi estimada para volume espermático, motilidade, concentração e NTSTZ.

Em geral existem poucos estudos de repetibilidade das características reprodutivas de equinos.

A repetibilidade mede o limite superior da herdabilidade, e representa a proporção da variância fenotípica de uma característica, explicada por diferenças permanentes ou não, localizada entre indivíduos. A repetibilidade é função das propriedades genéticas da população, da característica em estudo e das condições do ambiente nas quais os indivíduos foram mantidos (PEREIRA, 2012).

Para a realização do exame andrológico em equinos, são necessárias avaliações de diversas características, sendo que algumas delas como concentração espermática e NTSTZ apresentam baixa repetibilidade. Entretanto, são consideradas de extrema importância na predição da qualidade reprodutiva de garanhões. Sendo assim, as mesmas devem ser avaliadas com frequência, para que haja a redução da variância devida aos efeitos temporários do ambiente, com a consequente redução da variância fenotípica (PEREIRA, 2012).

As características que apresentam menores valores de repetibilidade devem ser avaliadas com mais frequência, pois sofrem muita variação por efeito ambiental. Mas, as características que apresentam maiores valores de repetibilidade, podem ser avaliadas com menor frequência, uma vez que, com poucas observações se obtém o potencial produtivo para tal característica. Sendo assim, aumenta a confiabilidade dessas características de alta repetibilidade apresentarem sempre valores próximos aos previamente observados.

Tabela 14. Componentes de variância e estimativa de repetibilidade das características seminais (CS) de garanhões da raça Mangalarga Marchador.

CS	$\sigma^2_{\text{ganhão}}$	σ_e^2	RE
Vol	530,94	280,58	0,65
Mot	124,66	214,93	0,37
Vig	0,23	0,31	0,43
Concent	38926,1	149242,2	0,21
NTSTZ	76226328	42448340	0,15

CONCLUSÃO

A partir dos resultados observados no presente estudo, pode-se concluir que em geral as características espermáticas não sofreram grandes alterações na qualidade com o efeito sazonal, apresentando valores dentro dos encontrados na literatura, sugerindo que o sêmen dos garanhões criados no Norte do Estado do Rio de Janeiro possa ser coletado em ambas as estações sem que altere a qualidade, o que se torna indispensável em programas de IA e TE.

BIBLIOGRAFIA

ALVARENGA, M.A.; PAPA, F.O. Principais distúrbios reprodutivos observados em garanhões no Brasil. **Rev Bras Reprod Anim Supl**, Belo Horizonte, n. 6, p. 204-209, 2009.

ALVI, S. M. H., COSSON, J. Sperm motility in fishes. Effects of temperature and pH: revisão. **Cell Biol Int**, v. 29, p. 101-110, 2005.

ANGUS, O., MCKINNON, EDWARD, L. SQUIRES, WENDY, E. VAALA and DICKSON, D. VARNER. **Equine Reproduction**. 2^a (ed). Editora Angus, O., Mckinnon. 3310 p. 2011.

CHEVALIER, F.C. Contribu tion a l 'etude de l'insémination artificielle chez le cheval. Alfort, 1979. (**Tese** pour le doctorat Veterinaire) – Ecole Nationale Veterinaire D'Alfort.

CLAY CM e CLAY JN. Endocrine and testicular changes associated with season, artificial photoperiod, and the peri-pubertal period in stallions. In: Blanchard TL, Varner DD, Turner AS, editors. **Stallion management, the veterinary clinics of North America, equine practice**. Philadelphia: Saunders; p. 31–56. 1992.

DOWSETT, K.F., OSBORNE, H.G., PATTIE, W.A. - Morphological characteristics of stallion spermatozoa. **Theriogenology**. ISSN 0093-691X. 22:5 463-472. 1984.

FAIR, W; R., CORDONNIER, J.J. The Journal of Urology. **Europe PubMed Central**, 120 (6): 695-698, 1978.

FENUX, D. SERRES, C. JOUANNET, P. Sliding spermatozoa: a dyskinesia responsible for human infertility. **Fertility and Sterility**, v. 44, p. 508-511, 1985.

FERNANDES, C. E., PIMENTEL, C. A. Características seminais e fertilidade em garanhões. **Ciência Ruaral**, v. 32, n. 5, p. 829-834, 2002.

FERREIRA, J. C. P., NEVES, NETO, J. R., PAPA, F. O. Avaliação computadorizada das características espermáticas de garanhões com fertilidade comprovada. **Rev Bras Reprod Anim**, v.21, p.131-32, 1997.

FRANCO JUNIOR, J. G. **Reprodução Assistida**. Editora Revinter. Cap 3. Análise do sêmen para reprodução assistida. 1997.

FREITAS, B. W. Parâmetros fisiológicos e seminais de garanhões da raça Mangalarga Marchador na região da Zona da Mata Mineira do decorrer das estações climáticas. **Dissertação** de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa-MG. 2010.

GORMAN M.R., ZUCKER I. Seasonal adaptation of Siberian hamster: II. Patterns of change in day length controls annual testicular and body weight rhythms. **Biol. Reprod.**, v. 53, p. 116-125. 1995.

GRERMANN, L. C. Avaliação comparativa do sêmen equino colhido com vagina artificial d por lavado intraluminal da cauda do epidídimo pós-orquiectomia. **Dissertação** de mestrado, Ciências agrárias, Universidade Federal do Paraná. 2006.

JANETT, F.; THUN, R.; NIEDERER, K.; BURGER, D.; HASSIG, M. Seasonal changes in sêmen quality and freezability in the Warmblood stallion. **Theriogenology**, v. 60, p. 453-461. 2003.

JOHNSON L. Increase daily sperm production in the breeding season of stallions is explained by an elevated population of spermatogonia. **Biol Reprod**; 32:1181-1190. 1985.

JOHNSON L, NEAVES WB. Age-related changes in the Leydig cell population, seminiferous tubules, and sperm production in stallions. **Biol Reprod**;24:703–12. 1981.

HENRY, M.; NEVES, J.P. Manual para exames andrológico e avaliação de sêmen. 2 ed. Belo Horizonte: **Colégio Brasileiro de Reprodução Animal**, 49p. (1998).

HERINGER N.L., STAUB C., BLANCHARD T.L., JOHNSON L., VARNER D.D. FORREST D.W. Germ cell apoptosis in the testis of normal stallions. 2004.

LEÃO, M. S., GUERSON, Y. B., RIBEIRO, F. A., COSTA, M. N. C., SIQUEIRA, J. B., MARTINS, C. B. Avaliação das características seminais em garanhões da raça Mangalarga Marchador. Semana de Educação Continuada em Medicina Veterinária, UFES. 2012.

MAGISTRINI M, CHANELOUBE P, PALMER E. Influence of season and frequency of ejaculation on production of stallion semen. **J Reprod Fertil Suppl.** 35, 127–33. 1987.

MANN. T. The biochemistry of semen and of the male reproductive tract. London, Butler & Tamner, 1964.

MARTINEZ, M. L., VERNEQUE, R. S., TEODORO, R. L., PAULA, L. R. O., CRUZ, M., CAMPOS, J. P., RODRIGUES, L. H., OLIVEIRA, J., VIEIRA, F., BRUSCHI, J. H., DURÃES, M. C. Correlações entre características da Qualidade do sêmen e a circunferência escrotal de reprodutores da raça Gir. **Rev. Bras. Zootec.**, 29 (3): 700-706, 2000.

MATOS, D. L., ARAÚJO, A. A., ROBERTO, I.G., TONIOLLI, R.. Análise computarizada de espermatozoides: revisão de literatura. **Rev Bras Reprod Anim**, v.32, p.225-232, 2008.

NASCIMENTO, E. F., SANTOS, R. L. Patologia da reprodução dos animais domésticos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 108 p. 1997.

MORREL, J. M., JOHANNISSON, A., DALIN, A. M., HAMMAR, L., SANBERT, T., MARTINEZ, H. R. Sperm morphology chromatin integrity in Swedish warmblood stallions and their relationship to pregnancy rates. **Acta Veterinária Scandinavica.** 50: 2. Doi: 10.1186/1751-0147-50-2. 2008.

MORTIMER, D., PANDYA, I. J. SAWERS, R. S. Relationship between human sperm motility characteristics and sperm penetration into human cervical muçus in vitro. **Journal of Reproduction and fertility**, v. 78, p. 93-102. 1986.

NETO, C. R., ALVARENGA. M. A., MONTEIRO, G. A., FARRAS, M. C., JUNIOR, J. A. D. Termografia superficial escrotal de garanhões jovens e idosos da raça Quarto de Milha submetidos a estresse térmico. Congresso de iniciação científica UNESC. 2011. Disponível em: http://prope.unesp.br/xxiii_cic/busca.php. Acesso em: 25 janeiro, 2014.

PATTIE, W. A., DOWSETT, K. F. The repeatability of seminal characteristics of stallions. **J. Reprod. Fertil. Suppl.** 32: 9-13, 1982.

PEREIRA, J.C.C. Melhoramento genético aplicado à produção animal. E ed. Belo Horizonte. FEPMVZ. 2012.

ROBALO SILVA, J.; AGRÍCOLA, R.; BARBOSA, M.; LOPES da COSTA, L. Variação sazonal do volume testicular, da produção e qualidade do sêmen e do comportamento sexual de cavalos Lusitanos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 102, p. 119-125. 2007.

RURANGWAY, E., KIME, D. E., OLLEVIER, F., NASH, J. P. The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. **Aquaculture**, v.234, p. 1-28, 2004

SALISBURY, G.W.; VANDEMARK, N.L. Fisiologia de la reproduccion e Inseminacion Artificial de los bovidos. Zaragoza, Acribia, 1964.

SANTOS, I. W., KOZICKI, L. E., WEISS, R. R., FERRAZ, A. M., CEMENCI, M. R., BINSFELD, L. C. The season effects on testosterone (T4) and semen parameters of Quarter Horse Stallions in Southern Brasil. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária** – ISSN: 1679-7353, 2011.

SAS. User's Guide. SAS Inst., Inc., Cary, NC. 2009.

SIEME.; KATILA, T.; KLUG, E. Effect of semen collection practices on sperm characteristics before and after storage and fertility of stallions. **Theriogenology**, v. 61, p. 769-784. 2004.

SILVA, C. M. B. Efeito da melatonina em espermatozoides de equino. Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa. 2010.

STUHTMANN, G. OLDENHOF, H., PETERS, P. KLEWITZ, T., MARTINSSON, G., SIEME, H. Iodixanol density gradient centrifugation for selecting stallion sperm for cold storage and cryopreservation. **Animal Reproduction Science** 133: 184-190, 2012.

VERONESI, M.C.; TOSI, U.; VILANI M.; GOVONI, N. FAUSTINI, M.; KINDAHL, H.; MADEJ, A.; CARLUCCIO, A. Oxytocin, vasopressin, prostaglandin F₂ α, luteinizing hormone, testosterone, estrone sulfate and cortisol plasma concentrations after sexual stimulation in stallions. **Theriogenology** 73, 460-467, 2010.

VERSTEGEN, J., IGUER-OUDA, M., ONCLIN, K. Computer assisted semen analyzer in andrology research nad veterinary practice. **Theriogenology**, v. 57, p. 149-179, 2002.

CAPÍTULO III

Avaliação do comportamento sexual de garanhões diante da exposição de fêmea em estro

INTRODUÇÃO

A equideocultura mundial exerce um importante papel como fonte geradora de renda e empregos. No Brasil, a indústria equídea ocupa posição de destaque pelo expressivo número de animais e por ter um excelente plantel, com isso o país vem exportando material genético para vários países (ALVARENGA, 2002).

Garanhões que possuem um alto valor genético têm seu sêmen coletado com uma grande frequência durante a estação de monta. Com isso, é imposta uma manipulação do comportamento sexual natural dos machos da espécie equina, quando se realiza a coleta de sêmen com intuito de utilizá-lo em técnicas reprodutivas como no caso da inseminação artificial (IA) e criopreservação. Assim, há uma restrição do comportamento sexual natural desses animais, podendo contribuir para fatores negativos no próprio comportamento, na libido, e na qualidade do sêmen (NOUE et al., 2001).

Para se atingir ao máximo o aproveitamento e a eficiência dos garanhões, os mesmos devem ser manejados com frequência para manter um comportamento sexual adequado e uma boa libido, assim, é recomendada a utilização de métodos apropriados de coleta de sêmen (SIEME et al., 2004).

Os equinos são considerados como uma espécie que possui “reprodução de dias longos”, dado que sua capacidade reprodutiva se maximiza nas estações do ano em que a luminosidade é crescente. Apresentam um aumento no peso e volume testicular, na primavera e no verão, que repercute em um aumento da produção de espermatozoides, aumento na libido e das concentrações plasmáticas hormonais de LH, FSH, Testosterona, estrógenos, inibina e prolactina (ANGUS et al., 2011). Todas estas alterações ocorrem devido a diminuição foto-induzida de melatonina pela

glândula pineal, permitindo um aumento considerável na produção hipotalâmica de GnRH e conseqüentemente de gonadotrofinas e hormônios sexuais (ROSER, 2009).

A espermatogênese e o comportamento sexual de garanhões, como em outras espécies são dependentes do bom funcionamento do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal (Garner et al., 2004). A liberação pulsátil do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) é realizado pelo hipotálamo, e atua na pituitária anterior estimulando a liberação de gonadotrofina (GARNER et al., 2004). Uma das gonadotrofinas é o hormônio luteinizante (LH), que se liga às células de Leyding, presentes no parênquima testicular de garanhões adultos, estimulando a produção e liberação de testosterona.

A testosterona é um hormônio esteroide sexual, que exerce efeito regulatório no comportamento sexual, assim como na espermatogênese (FELIX et al., 2001).

A atividade reprodutiva do garanhão é regulada pela sazonalidade e pelo fotoperíodo (PICKETT et al., 1989; CLAY e CLAY, 1992). Segundo esses autores a libido, a concentração de gonadotrofinas, o estrógeno e a testosterona são significativamente influenciados pela estação reprodutiva.

São necessários estudos para avaliação do comportamento sexual e libido de garanhões, pois, segundo Alvarenga et al., (2009) os problemas relacionados ao comportamento sexual são a segunda maior causa de distúrbios reprodutivos encontrados, e se caracterizam na maioria das vezes por distúrbios que interferem na capacidade de ejaculação. Geralmente a ereção e capacidade de monta estão presentes, contudo não ocorre ejaculação.

O objetivo do presente estudo foi avaliar o comportamento sexual e a concentração plasmática de testosterona de garanhões das raças Mangalarga Marchador, Quarto de Milha e Paint Horse situados no norte do estado do Rio de Janeiro – Brasil, durante e fora da estação reprodutiva e em categorias de idade.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi desenvolvido durante os meses de fevereiro, março e abril de 2013 (estação reprodutiva) agosto e outubro de 2013 (fora da estação reprodutiva). Foram utilizados 10 garanhões da raça Mangalarga Marchador com idades de 2,5 a 18 anos divididos em classe de animais jovens (até 4 anos da idade) e adultos (maior de 5 anos de idade), pertencentes a Haras situados no norte do Estado do Rio de Janeiro, Brasil.

Durante o período em que ocorreu o estudo, os animais foram mantidos em baias individuais e receberam ração comercial e feno duas vezes ao dia. Água e sal mineral disponíveis *ad libitum*. Previamente ao início do estudo, todos os animais foram submetidos a exame andrológico de acordo com o Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (1998), sendo todos os animais considerados aptos à reprodução.

A coleta de sêmen foi realizada com o uso de vagina artificial modelo Botucatu marca Botupharma[®], à temperatura de aproximadamente 45°C, utilizando uma égua em estro natural como manequim para estimular o garanhão a realizar a monta.

O comportamento sexual individual de cada animal foi observado e filmado durante a coleta do sêmen.

Ao analisar os vídeos para avaliar os eventos apresentados como comportamento sexual de cada animal, foi observado:

1. Tempo de reação (TR), que é o tempo em que o garanhão é apresentado à égua em estro, até exposição do pênis;
2. Tempo de monta (TM), Tempo que o animal é apresentado à égua em estro até iniciar a monta;
3. Tempo de monta mais ejaculação (TMEj), Tempo até ejaculação, em que o garanhão inicia a monta com a ejaculação até descer na égua;
4. Número de montas sem ereção (MSEr);
5. Número de montas sem ejaculação em que o garanhão introduz o pênis na vagina artificial, não ejacula e desce da égua (MSEj);
6. Número de reflexos de Fleming;

7. Número de evento cheirar;
8. Número de eventos morder;
9. Número de eventos coices;
10. Número de eventos vocalizar.

Para classificar a libido dos animais, de acordo com seus comportamentos sexuais, foi realizado o agrupamento de TR, TM e TMEj em baixa, média e boa libido, podendo ser observado na tabela 1.

Tabela 1. Classificação do comportamento sexual de garanhões de acordo com o tempo de reação (TR), tempo para realizar a monta (TM) e tempo de monta com ejaculação (MEj) medidos em segundo (seg).

Classe	TR (seg)	TM (seg)	MEj (seg)
Bom	1 a 10	5 a 20	até 19
Médio	11 a 30	21 a 40	20 a 32
Ruim	> 30	> 41	> 32

Classificação do animal			
TR (seg)	IntMta (seg)	MtaEjac (seg)	Final
Ba	Ba	Ba	Baixa
R	M	M	Médio
M	M	M	Médio
M	B	B	Bom
B	B	B	Bom

Foi coletada uma amostra de sangue de cada garanhão com tubo vacutainer sem EDTA. O sangue foi transportado ao laboratório em isopor contendo gelo. Ao chegar ao laboratório, os tubos contendo sangue foram centrifugados a 1400g por 15 minutos. O soro foi separado e as amostras foram estocadas em freezer a -20°C até a realização da análise.

Para a extração foram utilizados 200 μl das amostras que foram pipetadas em tubos de vidro. Na sequência foram adicionados 2 ml de éter etílico anidro. Os tubos foram agitados em Vortex[®] por 1 minuto e mantidos em freezer até a separação da fase orgânica da aquosa, sendo então a fase superior (orgânica) armazenada em tubos de vidro e mantida em temperatura de 37° em Banho-maria até a evaporação completa. Após a evaporação os tubos foram mantidos no freezer -20° até a realização do ensaio.

As concentrações de testosterona das amostras plasmáticas foram determinadas pelo Setor de Comportamento e Bem-estar Animal do Laboratório de Reprodução e Melhoramento Genético Animal (LRMGA). As concentrações de testosterona foram determinadas pela técnica de radioimunoensaio (RIE) em fase sólida sendo utilizado o conjunto diagnóstico comercial da Immunotech® Beckman Coulter Laboratories (Marseille, France).

Os procedimentos laboratoriais foram realizados de acordo com a metodologia proposta pelo fabricante.

Procedimento do radioimunoensaio

No dia do ensaio o conjunto diagnóstico comercial foi deixado em torno de 30 minutos em temperatura ambiente antes do início do ensaio. Os extratos das amostras foram re-dissolvidos em 200 µl de tampão fosfato contendo soro de albumina bovina e azida sódica.

Para a construção da curva de calibração foi rotulado:

1) 4 tubos de polipropileno (não revestido com anticorpo) de 12 x 75 mm para as contagens totais (T) e ligações não específicas (NSB) em duplicadas;

2) 18 tubos revestidos com anticorpos de testosterona sendo: dois tubos para P0 (ligação máxima com o anticorpo para a testosterona na ausência do padrão ou desconhecido) e dois tubos para cada calibrador (padrão) em ordem crescente correspondendo de Padrão 1 (P1 - 0,025 ng/ ml) a Padrão 8 (P8 - 23 ng/ml);

3) 2 tubos foram utilizados como controle do ensaio de valor conhecido fornecido pelo fabricante;

4) 80 tubos revestidos com anticorpos de testosterona para as amostras extraídas.

Após a rotulagem dos tubos como descrito acima foi pipetado 50 µl do calibrador 0 nos tubos NSB e P0; 50 µl dos calibradores remanescentes (padrões de P1 a P8); 50 µl dos controles e 50 µl das amostras extraídas.

Em todos os tubos foram adicionados 0,5 ml de testosterona 125l no espaço de 10 minutos, após pipetar os calibradores (padrões), controles e amostras, os tubos foram agitados no vortex e incubados por 1 hora em temperatura de 37°C em Banho-maria. Após este período todo o líquido contido nos tubos foi aspirado através de uma bomba a vácuo, exceto os tubos T (contagens totais). A leitura foi realizada através do contador gama Wizard 2470.

O controle de qualidade do RIE foi realizado através do coeficiente de variação intra-ensaio sendo 0,5 %. Como foi realizado apenas um ensaio, então não houve o cálculo do coeficiente de variação interensaio. A sensibilidade mínima detectada para o ensaio foi de 0,025 ng/ml. As concentrações de testosterona foram expressas em ng/ml.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 1 estão apresentadas as médias do tempo de reação (TR), intervalo até a monta ou tempo de monta (TM) e tempo da monta com ejaculação (MEj) em garanhões da raça Mangalarga Marchador, onde pode-se observar que o TR foi menor que o TM nas diferentes coletas. Ou seja, o garanhão mostra um comportamento mais adequado ao ficar exposto pela primeira vez com a fêmea.

Ao avaliar o comportamento sexual de garanhões da raça Mangalarga Marchador verificou-se que não houve diferenças no tempo de reação (TR) entre coletas, entre animais jovens e adultos e entre estação (1 e 2). Não foi observada diferença nas médias de tempo de monta e ejaculação (TMEj) entre as coletas, raças e estação reprodutiva, sendo essa variável mais uniforme entre animais e entre coletas do próprio animal.

Veronesi et al. (2010) ao avaliarem na Itália o comportamento sexual de garanhões, observaram que os animais apresentaram, do momento em que eram expostos à égua, até o início da ejaculação, uma média de tempo de 27,8 ± 10,57 segundos. Considerando assim como rápidos, comparados com o presente estudo, onde foram observados que a menor média foi de 27,9 ± 14,4 segundo, do momento

que foram apresentados a égua até realizarem a monta (considerando apenas subir sobre os posteriores da fêmea).

Foram verificadas diferenças nas médias de TM entre coletas. Foi observado uma variação do TM entre as coletas do mesmo animal e entre animais, fato que pode explicar essa variação nas médias dos garanhões entre coletas. Mesmo havendo variação, não houve diferença no TM entre animais jovens e adultos. Isso ocorreu devido ao fato de que mesmo alguns animais sendo jovens, eram usados com muita frequência como reprodutores, sendo submetidos a diversas coletas de sêmen mensalmente, levando ao condicionamento dos mesmos ao procedimento.

Outro fator de extrema importância que poderia justificar esse resultado seria o uso de éguas em estro como manequim, pois mesmo fora da estação reprodutiva, algumas éguas continuam ciclando e apresentando comportamento sexual de estro na região Norte do Estado do Rio de Janeiro. Na qual, isto se sucede devido à baixa variação de temperatura, umidade e luz.

Robalo Silva et al. (2007) também não observaram diferenças significativas no comportamento sexual dos garanhões da raça Lusitana entre as estações do ano.

Sieme et al. (2004) observaram que o comportamento dos garanhões variou de acordo com a frequência que esse animal é manejado durante e fora da estação reprodutiva.

Pode-se sugerir que o frequente manejo reprodutivo, do garanhão, expondo-o às éguas e realizando coletas de sêmen ou permitindo a cópula, poderia estimular esse garanhão a manter o interesse sexual, além de condicioná-lo a bom comportamento sexual, que seria a realização da cópula e ejaculação com menor tempo. Esse tipo de comportamento diminuiria os ríscos do garanhão e da égua sofrerem alguma injúria no processo de aproximação, devido a eventos de coices, e mordidas, até mesmo pela segurança do responsável pelo manejo dos animais.

Tabela 1. Médias e desvios das variáveis tempo de reação (TR), intervalo até a monta ou tempo para monta (TM) e tempo da monta e ejaculação (TMEj) em relação à coleta, categoria de idade (CI) e estação reprodutiva (ER).

Coleta	TR	TM	TMEj
1	24,7 ± 40,5 ^a	29,7 ± 31,8 ^a	25,0 ± 8,0 ^a
2	16,1 ± 10,4 ^a	53,6 ± 28,6 ^a	24,3 ± 6,3 ^a
3	13,6 ± 13,9 ^a	27,9 ± 14,4 ^a	23,3 ± 5,9 ^a
4	15,0 ± 14,4 ^a	32,4 ± 18,1 ^a	23,8 ± 5,5 ^a
CI			
Adulto	11,4 ± 12,6 ^a	38,7 ± 24,3 ^a	24,2 ± 4,8 ^a
Jovem	17,9 ± 21,6 ^a	28,1 ± 21,0 ^a	24,5 ± 7,0 ^a
ER			
1	13,9 ± 18,0 ^a	34,7 ± 24,8 ^a	24,5 ± 5,9 ^a
2	15,0 ± 14,4 ^a	32,4 ± 18,1 ^a	23,9 ± 5,5 ^a

letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença estatística entre as médias ($p < 0.05$).

Frequência de eventos do comportamento sexual de cavalos da raça Mangalarga Marchador

Na tabela 2 as frequências do número de montas sem ereção (MSEr), são apresentadas entre animais jovens e adultos. Foi verificado que a maioria dos animais não realiza monta sem ereção 34% nos animais adultos e 63,2 % nos garanhões jovens.

A monta sem ereção é considerada como uma prática pré-copulatória normal em garanhões que cobrem a campo, bem como o ato de vocalização, cheirar, dar leves mordidas e realização de Flehmen. Grande parte das montas é precedida de uma ou mais sem ereção (Henry et al., 1991; Tarouco, 2004). Esse procedimento pode ser considerado como uma maneira do garanhão testar a predisposição da fêmea a adotar a postura do estro.

Porém, na monta dirigida, na maioria das vezes, não é permitido que o garanhão realize a monta na fêmea, sem estar com o pênis ereto, pois se entende que quanto menor o período de permanência do macho sobre a fêmea, menor será o risco de causar danos, tanto aos animais, quanto para o técnico que conduz o procedimento.

No presente trabalho, a maioria dos animais foi manejada e condicionada a não realizar a monta sem apresentar ereção peniana.

Mas, de acordo com McDonnell, (2000) deixar os garanhões mais lentos montar sem ereção sobre a égua pode vir a acelerar a cobertura, estimulando o mesmo. Os poucos animais do presente trabalho que eram permitidos realizar a monta sem ereção, apresentaram comportamento menos agressivo diante de éguas dóceis. E após a monta sem ereção, os garanhões realizavam a exposição do pênis e realizavam a monta com ejaculação, ou seja, eram estimulados pela primeira monta sem ereção.

A maior frequência de monta sem ejaculação observada foi de apenas uma. A maioria dos animais realizava a monta e ejaculavam na primeira tentativa. Em relação aos animais que não ejaculavam na primeira monta, pode-se sugerir que o fato tenha ocorrido devido a algum desconforto diante da coleta com a vagina artificial, como a temperatura, quantidade de água ou pouca lubrificação. No entanto, não houve grande relutância dos animais a ejacularem. Mesmo os animais jovens apresentaram bom condicionamento à coleta de sêmen com a vagina artificial, pois apresentaram interesse pela fêmea, se aproximavam e realizavam a monta sem realização de muitos eventos de cheirar, morder e escoicear.

McDonnell, (1992) relatou que a maioria dos garanhões criados a pasto, exibiu alta frequência de montas sem ereção.

A maior frequência de Flehmen observada, foram 4, no entanto poucos animais apresentaram esse comportamento, sendo que os animais mais jovens não realizaram Flehmen (Tabela 2). Segundo McDonnell e Havigland, (1995) o comportamento de realizar Flehmen, parece facilitar a descida de fluidos providos da fêmea, como urina e muco vaginal, ao órgão vômero-nasal do macho, melhorando a capacidade olfatória do reprodutor. Sendo assim, acredita-se que dessa forma, os machos adultos se tornam aptos a detectar o início do estro das fêmeas.

Stahalbaum e Houpt, (1989) observaram que a frequência de respostas de Flehmen realizadas pelos garanhões variou de acordo com o ciclo estral das fêmeas. No presente estudo não houve grandes variações já que sempre foi utilizada uma égua em estro nas coletas.

Stahalbaum e Houpt, (1989) também sugeriram que a frequência de resposta de Flehmen, não é o comportamento mais frequente do garanhão como de cortejo à fêmea, e sim, pode estar mais envolvido com o monitoramento do ciclo

estral das éguas. Mesmo assim, o Flehmen pode contribuir como sensor químico da reprodução do garanhão.

Tabela 2. Frequência do número de montas sem ereção (MSEr), montas sem ejaculação (MSEj), reflexos de Flehmen, em relação à idade, de cavalos da raça Mangalarga Marchador.

Frequência	Jovem		Adulto	
	N	%	N	%
MSEr				
0	27,7	63,2	15	34,1
1	9,1	21,0	4	9,1
2	4,5	10,5	3	6,8
3	2,3	5,3	2	4,5
4	0	0	1	2,3
MSEj				
0	17	38,6	21	47,73
1	2	4,5	4	9,1
Flehmen				
0	13	29,5	19	43,2
1	4	9,1	3	6,8
2	2	4,5	1	2,27
3	0	0,0	1	2,27
4	0	0,0	1	2,27

Em geral houve pouca frequência de mordidas durante as coletas de sêmen. Pode-se observar na tabela 3 que houve maior frequência de mordidas entre os animais mais jovens, possivelmente pela inexperiência de alguns, que haviam sido recentemente introduzidos na reprodução.

Também pode ser explicada pelo fato de a maioria dos animais desse estudo apresentar temperamento dócil.

Como observado para as frequências de mordidas, houve baixa frequência de coices pelos garanhões do presente estudo, refletindo que os animais eram dóceis.

Segundo McDonnell, (1992), escoicear é um dos comportamentos pré-copulatórios do garanhão, o que não foi observado no presente trabalho.

Foram observados até 5 registros de cheirar, e a maior frequência foi de cheirar somente uma vez. Segundo McDonnell, (1992) os garanhões exibem característica de investigar se a égua esta em estro, cheirando a fêmea, seguindo da

realização do reflexo de Flehmen. Como no presente experimento, as éguas utilizadas como manequim sempre estavam em estro, os garanhões geralmente aproximavam-se, cheiravam uma vez, faziam o Flehmen. Em seguida ocorria a exposição do pênis e realizavam a monta.

No presente estudo foi observado uma frequência de até 7 vocalizações dos garanhões durante o período pré-copulatório (Tabela 3). A característica comportamental de vocalização durante o cortejo do garanhão com a égua ocorre principalmente na aproximação do garanhão diante da fêmea. (Bannikov, 1971; Benger, 1986), e durante interações agressivas há vocalização tanto do macho quanto da fêmea (Bemdtson et al., 1979).

Em geral observaram-se poucas vocalizações . Os Machos jovens, 18% não vocalizaram e entre os adultos, 27,3 % não vocalizaram.

Tabela 3. Frequência e número de mordidas (Morder), coices, cheirar e vocalizar em relação à idade, de cavalos da raça Mangalarga Marchador.

Frequência	Jovem		Adulto	
	N	%	N	%
Morder				
0	17	38,6	24	54,5
1	1	2,3	0	0,0
2	1	2,3	0	0,0
3	1	2,3	0	0,0
4	0	0,0	1	2,3
Coice				
0	18	40,9	23	52,3
1	1	2,3	1	2,3
2	0	0,0	1	2,3
Cheirar				
0	7	15,9	8	18,2
1	8	18,2	9	20,4
2	2	4,5	2	4,5
3	1	2,3	3	6,8
4	1	2,3	2	4,5
5	0	0,0	1	2,3
Vocalizar				
0	8	18,2	12	27,3
1	6	13,6	4	9,1
2	2	4,5	4	9,1
3	3	6,8	3	6,8
4	0	0,0	1	2,3
7	0	0,0	1	2,3

Ao avaliar os escores de libido dos animais do presente estudo nas estações 1 e 2, de acordo com a Tabela 1, apresentada na metodologia do presente estudo, pode-se observar que durante a estação reprodutiva (1) 35,3 % dos animais foram classificados apresentando comportamento sexual Bom; 52,9 % classificados em comportamento sexual Médio e 11,8 % foram classificados dentro de comportamento sexual Ruim.

Fora da estação reprodutiva (2) 37,5 % dos garanhões foram classificados como Bom, 50 % foram classificados como Médio e 12,5 % foram classificados como Ruim. Os resultados de libido nas duas estações apresentaram-se próximos, sugerindo que os garanhões estudados apresentam boa adaptabilidade às condições climáticas da região Norte do Estado do Rio de Janeiro. Mesmo em dias com temperaturas muito altas os animais apresentavam boa libido.

Ribas (2006) observou que em dias com temperaturas muito altas e alta umidade relativa do ar, houve dificuldade na dissipação do calor e os animais apresentavam sudorese intensa e nítida diminuição do interesse dos garanhões pelas fêmeas e conseqüentemente um aumento do tempo para realização de uma monta completa com ejaculação.

Leme (2003) também relatou que alterações no ambiente dificultam as coletas, portanto, em seu estudo, realizado em Botucatu, no estado de São Paulo, foi a diminuição da temperatura que causou a diminuição da libido.

Seale (2009) classificou o escore de libido de acordo com o tempo de reação e número de montas requeridas pelos garanhões para realizarem a ejaculação. Como no presente estudo, em geral os garanhões saltavam apenas uma vez e ejaculavam na primeira monta, os escores utilizados para classificar a libido dos animais foi o tempo de reação, o tempo para realizar a monta e o tempo da monta com ejaculação.

Os animais do presente estudo, em geral, mostraram-se bem condicionados a realização de coleta de sêmen, apresentaram comportamento dócil, logo, apresentaram poucas frequências de eventos de comportamento sexual.

Ao avaliar a concentração de testosterona dos animais após a coleta de sêmen e registro dos eventos sexuais, observou-se que apesar da variação dos níveis de testosterona mensurados de cada animal, não houve diferenças ($p > 0,05$) dos níveis de testosterona sérica entre animais adultos e jovens e entre a estação

reprodutiva e o período fora da estação reprodutiva. Leme (2003) relatou que não houve diferença nas concentrações de testosterona entre garanhões de diferentes raças e idades quando avaliou efeito de diferentes períodos de luminosidade nos níveis de testosterona, utilizando iluminação artificial.

Na tabela 4 apresentam-se as médias e o desvio padrão da concentração de testosterona (ng/mL) de acordo com a idade e estação reprodutiva.

As médias de concentração de testosterona não variaram entre animais jovens e adultos, assim como também não foram diferentes entre estação reprodutiva.

Johnson e Thompson, (1983) observaram que durante os meses referentes à época reprodutiva as concentrações de testosterona sofrem um aumento significativo. Os mesmos autores relataram que nessa época, a sensibilidade da hipófise ao GnRH exógeno também está aumentada, que conseqüentemente estimula a produção de LH que ao entrar em contato com as células de Leyding as estimulam a produzir testosterona.

Andrade (1986) também não observou diferença significativa na concentração de testosterona dos garanhões em diferentes estações. Segundo o mesmo autor, a possível ausência de sazonalidade nas condições brasileiras, provavelmente ocorreu na região onde foi desenvolvido o experimento.

Segundo Asa (2002), equinos originários de zonas temperadas evidenciam uma sazonalidade estacional mais marcada em comparação com cavalos criados em regiões tropicais. Sendo assim, como os garanhões do presente estudo pertencem à região tropical e que apresenta temperaturas muito elevadas, sugere-se que a concentração de testosterona não tenha sofrido com efeito estacional em nível de proporcionar alterações entre estação reprodutiva.

Hotzel et al. (2003) relataram que em latitudes mais elevadas, a sazonalidade é principalmente determinada pelo número de horas de luz, enquanto que regiões de latitude mais próximas à linha do equador, a nutrição pode sobrepor-se a esse efeito.

Os valores médios de concentração plasmática de testosterona estão dentro dos valores normais para garanhões, que segundo McDonnell et al. (1989) encontra-se entre 0,21 a 1,75 ng/mL. Veronese et al. (2010) observaram uma média

de concentração plasmática de testosterona ($2,1 \pm 1,9$ ng/mL) em garanhões, maior que a média verificada no presente trabalho.

Tabela 4. Médias e desvios das variáveis concentração de Testosterona em relação à coleta, idade e estação reprodutiva.

Efeito	Testosterona (ng/mL)
Idade	
Adulto	$0,55 \pm 0,26^a$
Jovem	$0,80 \pm 0,31^a$
Estação	
1	$0,67 \pm 0,38^a$
2	$0,63 \pm 0,21^a$

letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença estatística entre as médias ($p < 0,05$).

Correlação

Na tabela 5, pode-se observar que o tempo de exposição teve correlação positiva e se apresenta as correlações com TM, MSEj e cheirar. Animais que cheiravam com mais frequência e realizavam montas sem ejaculação, demoravam mais a expor o pênis.

O intervalo até a monta apresentou correlação positiva e significativa com MSEj e cheirar. Ou seja, animais que demoravam muito tempo cheirando a égua demoravam mais a realizar a monta completa, que seria a monta com consequente ejaculação.

Foi observado correlação entre o tempo da ejaculação e a concentração de testosterona. Diante desse resultado, pode-se sugerir que a maior concentração de testosterona poderia causar maior estímulo ao garanhão, levando-o a apresentar um maior tempo de ejaculação.

Observou-se alta correlação entre coice e mordida, sugerindo que à medida que os garanhões apresentem comportamento mais agressivo, tendem a escoicear e morder a égua.

Correlação negativa, porém de baixa magnitude entre testosterona com TR e TM, sugere que animais com maior concentração de testosterona demoram

menos para expor o pênis e realizar a monta. Squires et al, (1997) comentaram que a redução da libido em garanhões pode ter sido provocada pelo decréscimo na concentração de testosterona no sangue, conseqüentemente haverá um decréscimo na quantidade de testosterona disponível no sistema nervoso central para ser convertida em estradiol, que influenciaria no comportamento sexual (Sachs et al., 1988).

A testosterona apresentou correlação negativa de média magnitude com mordida, ou seja, à medida que aumenta a concentração sérica de testosterona, os animais tendem a não morder as fêmeas antes da monta.

Seale (2009) levantou a possibilidade da testosterona não exercer o papel principal no comportamento sexual dos garanhões ao observar correlação próxima de zero entre concentração de testosterona com os eventos de comportamento sexual. No presente trabalho, foi observado que a concentração de testosterona apresentou correlações de baixa magnitude com muitas variáveis do comportamento sexual dos animais.

Seale (2009) realizou análise de regressão para verificar qual a magnitude da correlação entre testosterona e comportamento sexual, observou que as correlações foram próximas de zero entre testosterona, libido, tempo de reação, ou número de montas, o que suporta a teoria de que a testosterona não teria influência substancial no comportamento sexual de garanhões.

Thompson et al. (1977) e Perkins et al. (1992) também relataram que a concentração de testosterona não tem ligação com libido. Veronesi et al. (2010) ao estudarem as correlações entre a testosterona e as características de comportamento sexual em garanhões, também observaram que as correlações foram de baixa magnitude.

No entanto, outros pesquisadores observaram que animais castrados podem acasalar com éguas quando recebem testosterona exógena (LARSSON E SODERSTEN, 1973 e FOOTE et al., 1977). Sendo assim, foi sugerido por esses autores que a testosterona pode ser convertida em estrógeno, já que o mesmo exerce maior influência no comportamento sexual de garanhões.

Tabela 5. Correlações entre as características de comportamento sexual do tempo de reação (TR), intervalo até a monta ou tempo de monta (TM), número de montas sem ereção (MSEr), número de montas sem ejaculação (MSEj), realização de Fleming, número de mordidas, coices, e vocalizações, concentração de testosterona.

	TR	TM	MEj	MSEr	MSEj	Fleming	Mordida	Coice	Cheirar	Vocalizar	Testost
Expos	-										
TM	0,29*	-									
MEj	-0,23	-0,23	-								
MSEr	0,25	0,25	-0,08	-							
MtaSEj	0,29*	0,29*	-0,03	-0,07	-						
Fleming	0,25	0,25	-0,05	-0,02	0,24	-					
Mordida	0,06	0,06	-0,14	0,39	0,17	0,05	-				
Coice	-0,01	-0,02	-0,04	0,31	-0,11	-0,13	0,62**	-			
Cheirar	0,30*	0,42*	-0,21	0,16	0,18	0,40	-0,11	-0,19	-		
Vocalizar	-0,02	-0,05	0,16	-0,12	0,09	0,03	-0,13	-0,20	0,08	-	
Testost	-0,20	-0,22	0,45*	-0,17	0,20	0,08	-0,34*	---	0,17	-0,14	-

* Significativo ($p < 0,05$), ** altamente significativo ($p < 0,001$).

CONCLUSÃO

A partir dos resultados observados no presente estudo, pode-se concluir que os garanhões criados no Norte do Estado do Rio de Janeiro, ao demonstrarem, em geral, boa libido e a não alteração do comportamento sexual entre estação reprodutiva, são considerados bem adaptados às condições ambientais a que são submetidos.

BIBLIOGRAFIA

ALVARENGA M.A. Melhoria da resistência espermática à congelação e diminuição das variações entre raças e indivíduos com uso da dimetilformamida para sêmen de garanhões. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia Universidade Estadual Paulista, 2002. 87p. Tese (Livre Docência em Reprodução Animal) FMVZ – Universidade Estadual Paulista, 2002.

ALVARENGA, M. A., PAPA, F. O. Principais distúrbios reprodutivos observados em garanhões no Brasil. **Revista Brasileira de Reprodução Animal Supl.**, Belo Horizonte, n. 6, p. 204-209, dez. 2009.

ANDRADE, L. S. Fisiologia e manejo da reprodução equina. 2 ed Recife. 387 p. 1986.

ANGUS, O., MCKINNON, EDWARD, L. SQUIRES, WENDY, E. VAALA and DICKSON, D. VARNER. **Equine Reproduction**. 2^a (ed). Editora Angus, O., Mckinnon. 3310 p. 2011.

ASA, C.S. Equid Reproductive Biology. In Equids: Zebras, Asses and Horses Status Survey and Conservation Action. Ed Moehlman, PD. IUCN/SSC **Equid Specialis Group**. pp 113-117. 2002.

BANNIKOV, A. G. The Asiatic Wild. *Animalia* 13: 580, 1971.

BERGER, J. Wild Horses of the great Basin Chicago, The University of Chicago Press, 1986.

BEMDTSON, W. E., HOYER, J. H., SQUIRES, E. L. Influence of exogenous testosterone on sperm production, seminal quality and libido of stallions. **J. Reprod. Fertil.** Suppl 27: 19, 1979.

CLAY CM, CLAY JN. Endocrine and testicular changes associated with season, artificial photoperiod, and the peri-pubertal period in stallions. In: Blanchard TL, Varner DD, Turner AS, editors. Stallion management, the veterinary clinics of North America, equine practice. Philadelphia: Saunders; p. 31–56. 1992.

CLAY, C.M., SQUIRES, E.L., AMANN, R.P., NETT, T.M. Influences of Season and Artificial Photoperiod on Stallions: Pituitary and Testicular Responses to Exogenous GnRH. **J. Anim. Sci.** 67, 763-770. 1989.

HENRY, M.; NEVES, J.P. Manual para exames andrológico e avaliação de sêmen. 2 ed. Belo Horizonte: **Colégio Brasileiro de Reprodução Animal**, 49p. 1998.

GARNER, D.L., HAFEZ, E.S.E. Espermatozóide e plasma seminal. In: **Reprodução Animal** HAFEZ, E.S.E., HAFEZ, B. 7ª ed. Cap.7 p. 97-107. 2004

FELIX B, CATALIN D, MIOLAN JP, NIEL JP. Effects of testosterone on the electrical properties and nicotinic transmissions of the major pelvic and celiac ganglion neurons. **J Neuroendocrinol**;13:193–8. 2001.

FOOTE RH, DRADDY PJ, BREITE M, OLTENACU EAB. Action of androgen and testosterone implants on sexual behavior and reproductive organs of castrated male rabbits. **Horm Behav**; 9:57-68. 1977.

HENRY, M., MCDONNELL, S. M., LODI, L. D. E GASTAL, E. L., TOLENTINO, F. T. Comportamento sexual de jumentos no período de cortejo e ato sexual. **VII Brazil Cong. Anim. Reprod.**, 71 Abstract. 1987.

HOTZEL, M.J., WALKDEN-BROWN, S.W., FISHER, J.S., MARTIN, G.B.. Determinants of the annual pattern of reproduction in mature male Merino and Suffolk sheep: responses to a nutritional stimulus in the breeding and non-breeding seasons. **Reprod. Fertil. Dev.** 15, 1-9. 2003.

IRVINE, C.H.G., ALEXANDER, S.L. Effect of sexual arousal on gonadotrophin releasing hormone, luteinising hormone and follicle stimulating hormone secretion in stallions. **J Reprod Fertil.** 44, 135-143. 1991.

JOHNSON, L, THOMPSON, D.L.JR. Age-related seasonal variation in the Sertoli cell population, daily sperm production and serum concentrations of follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone and testosterone in stallions. **Biol. Reproduction** 29, 777-789. 1983.

LARSSON K, SÖDERSTEN P. Sexual behavior in male rats treated with estrogen in combination with dihydrotestosterone. **Horm Behav**;4:289-299. 1973.

LEME, D. P. Características reprodutivas de garanhões sob luz natural ou acrescida de luz artificial à noite nos meses de maior e menor luminosidade do ano na região de Botucatu, São Paulo. **Tese** (Doutorado em Medicina Veterinária – Área de Reprodução Animal – Botucatu-SP, Universidade Estadual Paulista UNESP – 84p. 2003.

MCDONNELL, S., DIEHL, N. K., GARCIA, M. C. Gonadotropin releasing hormone (GnRH) affects precopulatory behavior in testosterone treated geldings. **Physiol. & Behav.** 45: 145-9. 1989.

MCDONNELL, S. M. Normal and abnormal sexual behavior. In: Blanchard, T. L., Varner, D. D. (Eds), Stallion Management. **Vet. North Am. Equine Pract.** 8, 71-89. 1992.

MCDONNELL, S. M., HAVILAND, J. C. S. Agonistic ethogram of the equid bachelor band. Applied **Animal Behavior Science**, vol. 43, p. 147-188, 1995.

MCDONNELL, S. M. Reproductive behavior of stallion and mares: comparison of freerunning and domestic in-hand breeding. **Anim. Reprod. Sc.** 60-61: 211-219. 2000.

NOUE P., BERNABÉ J., RAMPIN O., VIDAMENT M., DUMAS T., PALMER E., MAGISTRINI. Sexual Behavior of stallions during in-hand natural service and semen collection: na observation in French studs. **Animal Reproduction Science** 68: 161-169. 2001.

PICKETT BW, AMANN RP, MCKINNON AO, SQUIRES EL, VOSS JL. Management of the stallion for maximum reproductive efficiency. II. Colorado State University Animal Reproduction Laboratory Bulletin No. 5, Fort Collins; 1989.

ROSER, J. F. Reproductive endocrinology of the stallion. In J. C. Samper (Ed.), *Equine breeding management and artificial insemination* (2nd ed., pp. 17-31). Missouri: Saunders ELSEVIER. 2009.

SACHS, B. D., MEISEL, R. L. The Physiology of male reproductive behavior, In: Knobil E, Neil, J. (Eds), **The Physiology of reproduction**. New York: Raven Press; 1393-1486. 1988.

SQUIRES, E. L., BADZINSKI, R. P., AMANN, P. M., MCCUE, P. M. AND NETT, M. T. Effects os altrenogest on total scrotal width, seminal characteristics, concentrations of LH and testosterone and sexual behavior of stallions. **Theriogenology**, 48: 313-328, 1997.

SEALE, J. L. analisys of estrone sulphate, testosterone, and cortisol concentrations around time of ejaculation and potencial correlation to sexual behavior and sperm characteristics in stallion. Tese de graduação do B. S. **Agricultural Development**, Texas A&M University. 2009.

SIEME H., KATILA T., KLUG E. Effect of semen collection practices on sperm characteristics before and after storage and on fertility of stallions. **Theriogenology** 61: 769-784. 2004.

STAHLBAUM, C. C., HOUPPT, K. A. The role of the Flehmen response in the behavioral repertoire of the stallion. **Physiology & Behavior**, v. 45 p. 1207-1214. 1989.

PERKINS A, FITZGERALD JA, PRICE EO. Luteinizing hormone and testosterone response of sexually active and inactive rams. **J Anim Sci**; 70:2086-2093. 1992.

TARUCO, A. K. Organização social e comportamento reprodutivo de garanhões e éguas da raça Brasileira Pôneis. Porto alegre, 2004. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias – Reprodução Animal) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2004.

THOMPSON DL, PICKETT BW, BERNDTSON WE, VOSS JL, NETT TM. Reproductive physiology of the stallion VIII artificial photoperiod, collection interval and seminal characteristics, sexual behavior and concentrations of LH and testosterone in serum. **J Anim Sci**; 44:656-664. 1977.

THOMPSON JR DL, PICKETT BW, SQUIRES EL, NETT TM. Sexual behaviour, seminal pH and accessory sex gland weights in geldings administered testosterone and (or) estradiol-17B. **J Anim Sci**; 51:1358-1366. 1980.

VERONESI, M.C.; TOSI, U.; VILANI M.; GOVONI, N. FAUSTINI, M.; KINDAHL, H.; MADEJ, A.; CARLUCCIO, A. Oxytocin, vasopressin, prostaglandin F₂ α, luteinizing hormone, testosterone, estrone sulfate and cortisol plasma concentrations after sexual stimulation in stallions. **Theriogenology** 73, 460-467, 2010.

CONCLUSÃO

A partir dos resultados observados no presente estudo, pode-se concluir que em relação à avaliação de biometria testicular, que as medidas apresentaram-se adequadas para cavalos das raças estudadas e que a partir dessas medidas pode-se prever a produção espermática dos garanhões. Em geral as características espermáticas não sofreram grandes alterações na qualidade com o efeito sazonal, apresentando valores dentro dos encontrados na literatura. Sugerindo que o sêmen dos garanhões criados no Norte do Estado do Rio de Janeiro possa ser coletado em ambas as estações sem que altere a qualidade. Os garanhões estudados demonstraram em geral, boa libido e a não alteração do comportamento sexual entre estação reprodutiva, poderiam ser considerados como bem adaptados às condições ambientais em que são submetidos.