

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO

LUIZA MARIA FEITOSA RIBEIRO

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL REPRODUTIVO DE GARANHÕES ATRAVÉS DO
ESPERMOGRAMA, TERMOGRAFIA INFRAVERMELHA E
ULTRASSONOGRRAFIA DOPPLER**

Campos dos Goytacazes

2023

LUIZA MARIA FEITOSA RIBEIRO

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL REPRODUTIVO DE GARANHÕES ATRAVÉS DO
ESPERMOGRAMA, TERMOGRAFIA INFRAVERMELHA E
ULTRASSONOGRAFIA DOPPLER**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal na Área de Concentração de Reprodução e Saúde Animal.

ORIENTADORA Prof^a: Paula Alessandra Di Filippo

Campos dos Goytacazes

2023

LUIZA MARIA FEITOSA RIBEIRO

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL REPRODUTIVO DE GARANHÕES ATRAVÉS DO
ESPERMOGRAMA, TERMOGRAFIA INFRAVERMELHA E
ULTRASSONOGRAFIA DOPPLER**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal na Área de Concentração de Reprodução e Saúde Animal.

Aprovado em 28 de fevereiro de 2023

BANCA EXAMINADORA

Profª Roberta Carvalho Basile (Doutora, Ciências Agrárias) – UNESP

Profº Wilder Hernando Ortiz Vega (Doutor, Ciência Animal) – UNINTA

Profª Aparecida de Fátima Madella de Oliveira (Doutora, Ciência Animal) – IFES

**Profª. Paula Alessandra Di Filippo (Doutora, Cirurgia Veterinária) - UENF
(Orientadora)**

Aos,

Meus pais, Ulisses e Sônia, meus exemplos de força e perseverança, que sempre acreditaram em mim.

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Inicialmente gostaria de agradecer a Deus, pelo dom da vida, por me dar força nos momentos difíceis no caminho da pós-graduação.

Aos meus pais, Ulisses Manoel Cordeiro Ribeiro e Sônia Maria Muniz Feitosa, meus irmãos Maria Lucy, Cassiano, Ana Laura e Matheus, meus sobrinhos Maria Eduarda, João Pedro, Arthur, Alice, Matheus, Vicente e Lorenzo e minhas afilhadas Esther e Amanda, por todo amor e apoio incondicional.

A Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, em especial ao Programa de pós-graduação em Ciência Animal, sem a qual não conseguiria adquirir conhecimento para concluir esta etapa, a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro - FAPERJ, pela concessão da bolsa de estudos.

À minha Orientadora, professora Paula Alessandra Di Filippo, a quem me inspiro desde o início da faculdade e que me lançou no mundo científico, por toda paciência, disponibilidade e aprendizado adquiridos durante esses 10 anos de convivência. A minha co-orientadora, Roberta Basile, pela contribuição e ensinamentos na melhor forma de utilização da termografia de infravermelho.

Aos amigos que contribuíram de alguma forma para realização deste trabalho: João Victor Bersot, Laura Petrucci, Andressa Alves, Luan Wutke, Maurício Netto, Maurício Mata, Caroline Fabres, Isadora Guterres, Leticia Cirne e Ludmila Audízio que muitas vezes abriram mão de suas tarefas para me acompanhar e ajudar. A funcionária e amiga Claribel, por todos momentos de amizade e acolhimento. A minha namorada Luana Campos, pelos momentos de alegria, incentivo e cumplicidade.

Aos Laboratórios de Clínica e Cirurgia Animal (LCCA) e de Reprodução e Melhoramento Genético Animal (LRMGA), em especial aos professores José Frederico Straggiotti, Luís Fonseca Matos e Isabel Candia por possibilitarem acesso ao laboratório e equipamentos necessários para realização de parte deste trabalho. À professora Celia Quirino, por toda ajuda na elaboração do projeto, bem como na análise estatística dos dados. Agradeço ainda, aos criadores dos cavalos e seus funcionários que me auxiliaram na realização deste estudo. A todos que contribuíram direta ou indiretamente para execução deste trabalho que eventualmente não tenha citado aqui. A todos vocês, MUITO OBRIGADA!

**“Façamos da interrupção um caminho novo,
Da queda, um passo de dança,
Do medo, uma escada,
Do sonho, uma ponte,
Da procura, um encontro! ”**

Fernando Sabino

RESUMO

O melhoramento genético em garanhões é baseado nas características fenotípicas desejáveis, abdicando muitas vezes da qualidade seminal. O objetivo desse estudo foi avaliar a fertilidade de 24 garanhões de diferentes raças, com idade média de $7,46 \pm 3,69$ anos, durante os períodos de verão (dezembro a março) e inverno (julho a setembro) e criados na região Norte Fluminense (RJ). Foram feitas imagens termográficas testiculares, mensuração dos parâmetros fisiológicos e ambientais, biometria testicular, ultrassonografia Doppler da artéria testicular e coletas de sêmen. As diferenças entre períodos foram analisadas por ANOVA de uma via, com nível de significância de 5%. A temperatura ambiental e umidade relativa do ar diferiram entre os dois períodos, sendo superiores no verão ($28,94 \pm 3,00^\circ\text{C}$ e $21,58 \pm 2,21^\circ\text{C}$) versus o inverno ($75,48 \pm 9,54\%$ e $70,25 \pm 9,16\%$). Houve aumento da frequência respiratória no verão ($p < 0,05$), a qual foi associada ao desconforto térmico. A temperatura superficial escrotal esteve $1,1^\circ\text{C}$ ($32,56 \pm 0,04^\circ\text{C}$) superior a observada no inverno ($31,39 \pm 0,02^\circ\text{C}$). As temperaturas corporais e escrotais no verão diferiram em 5°C e no inverno $5,8^\circ\text{C}$ (Δ). As variáveis volume testicular total, motilidade espermática, vigor e volume seminal não diferiram entre os dois períodos. A concentração espermática, defeitos totais e o índice de resistividade da artéria testicular esquerda, foram maiores no verão do que no inverno. Conclui-se que no verão, os garanhões da região Norte Fluminense (RJ) apresentam estresse térmico resultando em taquipnéia como indicativo de defesa do organismo submetido ao calor, e que o aumento da temperatura ambiental e testicular no verão, acarretou um maior número de espermatozoide com defeitos, gerou alterações de impedância artéria testicular esquerda, causada também pelo tempo maior de permanência na cavidade abdominal. Entretanto, tais alterações encontradas no verão, não foram suficientemente capazes de condenar a fertilidade dos garanhões estudado.

Palavras-chave: equino, sêmen, termorregulação, fertilidade, bem-estar animal

ABSTRACT

Genetic improvement in stallions is based on desirable phenotypic characteristics, often abdicating seminal quality. The objective of this study was to evaluate the fertility of 24 stallions of different breeds, with a mean age of 7.46 ± 3.69 years, during the summer (December to March) and winter (July to September) periods and raised in the North Fluminense (RJ). Testicular thermographic images, measurement of physiological and environmental parameters, testicular biometry, Doppler ultrasonography of the testicular artery and semen collections were performed. Differences between periods were analyzed by one-way ANOVA, with a significance level of 5%. Environmental temperature and relative humidity differed between the two periods, being higher in summer ($28.94 \pm 3.00^\circ\text{C}$ and $21.58 \pm 2.21^\circ\text{C}$) versus winter ($75.48 \pm 9.54\%$ and $70.25 \pm 9.16\%$). There was an increase in respiratory rate in the summer ($p < 0.05$), which was associated with thermal discomfort. Scrotal surface temperature was 1.1°C ($32.56 \pm 0.04^\circ\text{C}$) higher than that observed in winter ($31.39 \pm 0.02^\circ\text{C}$). Body and scrotal temperatures differed by 5°C in summer and 5.8°C (Δ) in winter. The variables total testicular volume, sperm motility, vigor and seminal volume did not differ between the two periods. Sperm concentration, total defects and left testicular artery resistivity index were higher in summer than in winter. It is concluded that in the summer, the stallions of the North Fluminense region (RJ) present thermal stress resulting in tachypnea as an indication of defense of the organism subjected to heat, and that the increase in the ambient and testicular temperature in the summer, led to a greater number of spermatozoa. with defects, generated changes in the left testicular artery impedance, also caused by the longer time spent in the abdominal cavity. However, such alterations found in the summer were not sufficiently capable of condemning the fertility of the studied stallions.

Keywords: equine, semen, thermoregulation, fertility, animal welfare

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Revisão de Literatura

- Figura 1. Representação esquemática dos túbulos seminíferos e estruturas envolvidas.....17
- Figura 2. Mecanismos de transferência de calor no equino.....19
- Figura 3. Mecanismos que asseguram a termorregulação testicular no garanhão: a) Plexo pampiniforme; b) músculo cremáster; c) túnica dartos; d) Epiderme delgada rica em glândulas sudoríparas.....24
- Figura 4. Representação esquemática dos locais de mensurações do Doppler no cordão espermático.....31

Capítulo I

- Figura 1. Esquema gráfico resumindo todas as avaliações realizadas nos animais, no verão e inverno.....42
- Figura 2: Gráficos A, B, C, D, E e F: Valores médios da temperatura ambiental (A) e umidade relativa do ar (B), frequência cardíaca (C), frequência respiratória (D), temperatura retal (E), dos garanhões alojados em baia, no verão e no inverno. Relação entre a temperatura retal, temperatura ambiental (F), durante todo o período de avaliação..... 44
- Figura 3: Valores médios da temperatura da superfície testicular (G), de ambos testículos, dos garanhões alojados em baia, no verão e no inverno45

Figura 4: Valores médios da concentração espermática (H), motilidade total (I), volume seminal (J), vigor (K) e morfologia espermática (L), dos garanhões alojados em baia, no verão e no inverno.....46

Figura 5: Valores médios do volume testicular direito (VTD), volume testicular esquerdo (VTE) e volume testicular total (VTT) (M), dos garanhões alojados em baia, no verão e no inverno.....47

Figura 6: Valores médios da velocidade de pico sistólico do testículo direito (VPS-D), e esquerdo (VPS-E) (N), velocidade diastólica final do testículo direito (VDF-D), e esquerdo (VDF-E) (O), índice de resistividade do testículo direito (IR-D) e esquerdo (IR-E) (P), dos garanhões alojados em baia, no verão e no inverno.....48

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1. Eficiência reprodutiva do garanhão e exame andrológico	13
2.2. Espermatogênese	15
2.3. Termorregulação e homeotermia.....	18
2.4. Conforto térmico animal.....	20
2.5. Índices de estresse térmico animal	21
2.6. Termorregulação testicular.....	22
2.6. Avaliação termográfica por infravermelho	25
2.7. Avaliação termográfica na reprodução do macho	27
2.8. Ultrassonografia (US) Doppler	29
3. OBJETIVOS:.....	32
3.1. Objetivo Geral:	32
3.2. Objetivos específicos:.....	32
CAPITULO I.....	34
Avaliação do potencial reprodutivo de garanhões através do espermograma, termografia infravermelha e ultrassonografia Doppler	34
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:	56

1. INTRODUÇÃO

A criação de cavalos com alto valor zootécnico visa produzir descendentes que, no futuro, possam apresentar desempenho atlético semelhante e/ou superior ao seu progenitor (MANAF, 2011). No garanhão, a fertilidade e a produção de células germinativas necessitam de um adequado aporte sanguíneo testicular suprindo as gônadas com oxigênio, nutrientes e hormônios. (VELASCO, 2021). Para que não haja comprometimento da produção espermática, os testículos necessitam de uma faixa de temperatura ideal de $\sim 3-5^{\circ}\text{C}$ abaixo da corporal (RIZZOTO & KASTELIC, 2019). Para que a temperatura testicular se mantenha ideal o plexo pampiniforme, a túnica dartos, o músculo cremáster e as glândulas sudoríparas escrotais fazem o controle da termorregulação local, funcionando de maneira integrada com mecanismos fisiológicos (ALVES et al., 2016). A temperatura ambiental e umidade relativa do ar interferem diretamente na termorregulação testicular, pois podem influenciar no conforto térmico ambiental e capacidade de adaptação dos animais as condições climáticas, determinando assim o sucesso da atividade reprodutiva e expressão máxima do potencial genético (BELAY & TEETER, 1993; FURLAN et al., 2006).

Alterações vasculares testiculares afetam diretamente a produção espermática e são causas comuns de subfertilidade em garanhões (ORTEGA-FERRUSOLA et al., 2014; ORTIZ-RODRIGUEZ et al., 2017). A ultrassonografia Doppler surgiu com objetivo de permitir exames mais detalhados e transmitir informações sobre vascularização e arquitetura dos vasos (CARVALHO et al., 2008). Na andrologia vem sendo aplicada para avaliar a perfusão testicular (POZOR E MCDONNELL, 2004), que está ligada ao bom funcionamento de testículos e epidídimos e diagnóstico de suas patologias. (GUENZEL-APEL et al., 2001).

A atividade reprodutiva nos cavalos é regulada por um ritmo endógeno sincronizado por estímulo ambiental (fotoperíodo). Estes estímulos são transmitidos pelo sistema neuroendócrino em sinais hormonais que regulam a atividade gonadal (GORMAN E ZUCKER, 1995). Desta forma, os cavalos possuem a capacidade reprodutiva máxima nos dias longos, principalmente no verão (CLAY E CLAY, 1992). Na região Norte do Estado do Rio de Janeiro, o clima é quente durante o verão (temperatura média de 26.4°C), e frio no inverno (temperatura média de 21.2°C)

apresentando também um período longo de seca nessa estação (CLIMATE-DATA.ORG, 2019; RUA, 2014).

O objetivo desse estudo foi avaliar a qualidade espermática de garanhões no verão e no inverno e suas inter-relações com a temperatura superficial escrotal, perfusão testicular e conforto térmico. A hipótese é que a temperatura ambiental interfere na qualidade espermática dos garanhões.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Eficiência reprodutiva do garanhão e exame andrológico

Atualmente, o Brasil ocupa posição de destaque na criação de equinos, sendo o quarto maior rebanho do mundo composto por 5.962.126 cabeças que compõem a indústria do cavalo e movimentam a economia nacional (IBGE, 2021). Para se manter competitivo é fundamental que haja o progresso genético das raças, com controle da eficiência reprodutiva e do potencial genético de reprodutores e matrizes (GUASTI, 2022).

O melhoramento genético em equinos é baseado em características relacionadas a performance atlética, morfologia e pedigree (VARNER et al., 2011). E diferente do que acontece em bovinos, as características reprodutivas não são consideradas em programas de melhoramento genético, contribuindo com a expressiva quantidade de reprodutores com baixa qualidade seminal e baixa fertilidade. Além disso, os reprodutores são expostos a níveis consideráveis de estresse devido à grande demanda de coberturas e/ou montas naturais resultando na diminuição da qualidade seminal durante a estação de monta (GUASTI, 2022).

Para a avaliação adequada da eficiência reprodutiva de um macho ou verificação da existência de patologia no órgão reprodutor do animal, é necessária a realização do exame andrológico com identificação, histórico detalhado, exame clínico, exame especial dos órgãos reprodutivos, avaliação do sêmen, comportamento sexual e libido (CBRA, 2013).

O histórico clínico e a anamnese são importantes, pois permitem obter informações do estado de saúde do indivíduo e a possibilidade de doenças em outros sistemas que possam comprometer a *potentia coeundi* ou *generandi* (HENRY, 2013).

O exame interno, faz a inspeção interna através de palpação retal, ultrassonografia transretal e raio X, dependendo da espécie. Tem por finalidade examinar as ampolas dos ductos deferentes, as glândulas vesiculares, a próstata e as bulbouretrais, variando a presença destas de acordo com cada espécie (CBRA, 2013).

A ultrassonografia (US) no modo B fornece informações sobre a arquitetura interna dos órgãos genitais, auxiliando no diagnóstico e melhorando o prognóstico de inúmeras patologias. Além de permitir o estudo seriado de um grupo de indivíduos ao longo do tempo, facilitar técnicas como biópsias, aferição do diâmetro testicular e a predição da produção testicular (CARAZO et al., 2014). É um método de diagnóstico por imagem não invasivo, importante na avaliação das glândulas sexuais e do parênquima testicular dos reprodutores, permitindo diagnosticar alterações andrológicas ainda assintomáticas aos exames convencionais (TEIXEIRA et al., 2011; SILVA et al., 2015). No entanto, é pouco utilizada no exame andrológico devido à falta de conhecimento da anatomia ultrassonográfica e pouco treinamento especializado. Isso pode acarretar diagnósticos patológicos tardios, dificultando o tratamento e comprometendo a fertilidade do garanhão (MONTEIRO, 2017).

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, comprimento e altura (VARNER et al., 1992). Alguns fatores são capazes de interferir na largura escrotal, como: raça, tamanho, idade, estação do ano e estes devem ser levados em consideração ao se realizar o exame (VARNER et al., 1992).

A avaliação do sêmen realiza-se por meio do espermograma, após a coleta do ejaculado total ou livre da fração gel. Avalia-se as características físicas do sêmen e morfológicas dos espermatozoides. Nas avaliações macroscópicas, podemos pontuar: o volume, a cor, o odor e o aspecto do sêmen. Microscopicamente avalia-se: motilidade total e progressiva, vigor e a concentração espermática. As características

morfológicas dos espermatozoides podem ser identificadas como: defeito primário, secundário ou terciário e alterações espermáticas podem ser agrupadas em: defeitos maiores, menores e totais dependendo do grau de comprometimento do defeito sobre o potencial fértil (BLOM, 1972),

Outra forma de classificação se baseia na identificação da patologia de acordo com seu local de ocorrência no espermatozoide: região da cabeça, na peça intermediária ou na cauda, envolvendo a peça principal e terminal. (CLEMENT et al., 1992). É importante ressaltar que existe uma correlação positiva entre a quantidade dos defeitos que aparecem na amostra de sêmen e a fertilidade (RODRIGUEZ MARTINEZ, 2005).

O exame andrológico é utilizado com bons resultados na seleção de reprodutores aptos entre os animais de produção e domésticos, porém não é capaz de prever por si só, determinadas alterações que possam estar correlacionadas com características reprodutivas não satisfatórias, por isso, em algumas situações, se faz necessário o uso de outros exames complementares (SALVADOR et al., 2008).

2.2. Espermatogênese

O macho expressa sua habilidade reprodutiva manifestando o desejo de copular, mostrando que tem a capacidade física de realizar a cópula e, produzindo espermatozoides férteis.

Os espermatozoides são vistos como o produto secretado de um evento contínuo chamado: espermatogênese (HENRY, 2013).

A espermatogênese é um processo cíclico organizado que ocorre nos túbulos seminíferos do parênquima testicular, onde células diploides (espermatogônias) se diferenciam numa célula haploide madura (espermatozoide). Estes túbulos, na espécie equina, são compostos por células germinativas em diferentes graus de desenvolvimento, intercaladas e sustentadas por células de Sertoli, que se fixam na membrana basal e se estendem até o lúmen (figura 1) (VARNER & JOHNSON, 2007).

O processo espermatogênico, é um dos mais produtivos sistemas de auto renovação do organismo animal e possui duração de 57-58 dias no garanhão. Divide-se em três fases: a espermatocitogênese (fase de proliferação), a meiose (fase de multiplicação) e a espermiogênese (fase de diferenciação). Durante a

espermatocitogênese, as células germinativas mais jovens, as espermatogônias, se dividem em cinco gerações celulares (A1, A2, A3, B1 e B2). Durante esta fase parte do citoplasma dessas células continua unido, formando as pontes intercelulares que são importantes permitindo a comunicação direta entre as células irmãs, garantindo o desenvolvimento desta linhagem celular (JOHNSON et al., 1997; NEVES, 2002).

Após a última divisão espermatogonial, estas passam a se chamar de espermatócitos; os da primeira divisão meiótica são os espermatócitos primários e os da segunda são os espermatócitos secundários (COSTA & PAULA, 2004). Na primeira divisão meiótica, o núcleo da célula passa pela metáfase, anáfase e telófase para produzir os espermatócitos secundários, que apresentam núcleos menores que os do espermatócito primário, sem que ocorra duplicação de DNA (CLERMONT, 1972).

Após a segunda divisão meiótica, os espermatócitos secundários dividem-se e passam a ser denominados espermatídes dando início a espermiogênese, fazendo a diferenciação celular até a formação dos espermatozoides (JOHNSON et al., 1997).

Na espermiogênese as espermatídes sofrem transformações com compactação da cromatina, formação do flagelo, do acrossoma e perde citoplasma e são liberadas no lúmen do túbulo seminífero como espermatozoides, processo denominado espermiação.

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).

Uma vez nos túbulos seminíferos os espermatozoides sofrem processo de maturação espermática no epidídimo e capacitação no trato genital feminino para se tornarem aptos à fertilização (COSTA & PAULA, 2003).

Conclui-se então que através do processo de espermatogênese ocorrem replicação, recombinação e segregação de material genético, com redução do número de cromossomos, e a ocorrência destes eventos permite a multiplicação da própria espécie (HENRY, 2013).

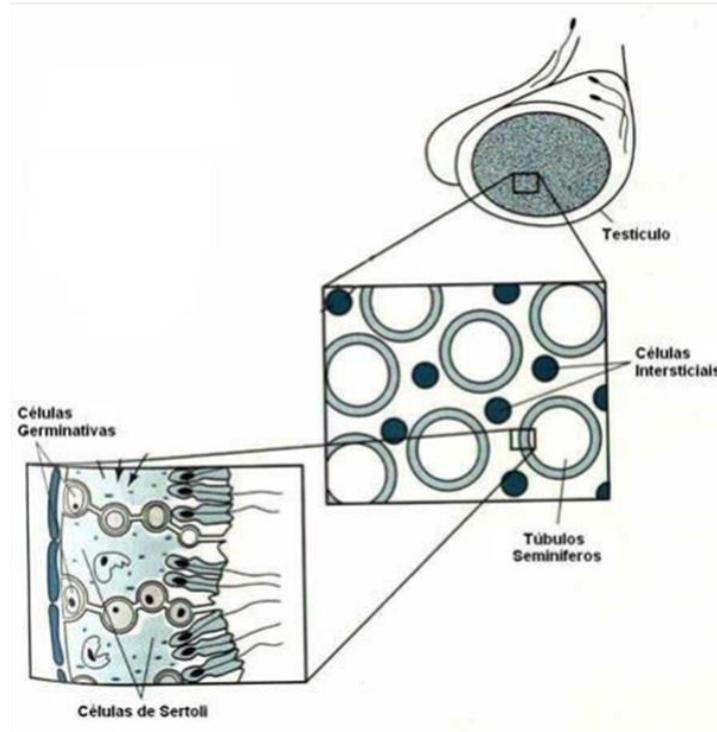


Figura 1: Representação esquemática dos túbulos seminíferos e estruturas envolvidas. Adaptado de:<http://fisiovet.uff.br/2018>.

2.3. Termorregulação e homeotermia

Os equinos são classificados como animais homeotérmicos e endotérmicos. Ou seja, são capazes de manter sua temperatura corporal interna constante, mesmo com variação térmica do ambiente e utilizar fontes de calor endógeno para manter suas funções metabólicas, além de usarem mecanismos comportamentais e autonômicos para realizar sua termorregulação (BÍCEGO & GARGAGLIONI, 2020).

O sistema de regulação da temperatura tem como objetivo ajustar a temperatura corporal interna de acordo com as necessidades metabólicas, tanto de animais endotérmicos como de ectotérmicos. A termorregulação utiliza de mecanismos que promovem a termogênese, produção de calor, e termólise, perda de calor (ALMEIDA, 2020).

A termogênese utiliza principalmente os processos metabólicos para produção de calor, mas também utiliza de mecanismos autonômicos como o tremor e a termogênese independente de tremor, e para a preservação do calor utiliza a vasoconstrição periférica e vasodilatação profunda (ALMEIDA, 2020). No tremor, os músculos esqueléticos do animal se movimentam de forma rítmica e involuntária com objetivo de aumentar a produção de calor metabólico. Outra forma de geração de calor é não decorrente de tremor, onde ocorre aumento do metabolismo devido a um acréscimo na secreção de hormônios tireoidianos e pelo efeito das catecolaminas sobre os lipídeos (KLEIN, 2014). Os animais também possuem mecanismos comportamentais para se adequarem a condições de temperatura. No calor, tendem a se afastar uns dos outros, deitam no chão mais frio e buscam por sombra, e no frio tendem a se agrupar (ALMEIDA, 2020).

De outro modo, a termólise caracteriza-se pela perda de energia térmica através de mecanismos de transferência de calor sensível ou não- evaporativa, condução, convecção e radiação e de perda de calor latente, por evaporação (figura 2) (ALMEIDA, 2020). Caso o animal não consiga dissipar o calor excedente, a temperatura sistêmica fica acima dos valores fisiológicos normais e desenvolve-se o estresse térmico, responsável em parte, pela baixa produtividade animal nos trópicos (SANTOS et al., 2006).

Nesse contexto, é importante entender que o sangue é o meio de distribuição do calor corporal e do fluxo sanguíneo sendo controlado por fibras vasoconstritoras simpáticas que inervam os vasos (REECE, 2017). As alterações vasculares para

redistribuição da circulação ocorrem com objetivo de aquecer ou resfriar determinadas regiões do corpo, como no estresse pelo frio ocorrendo vasoconstrição dos vasos cutâneos e das anastomoses arteriovenosas, afim de reduzir a temperatura cutânea e evitar perda de calor para o ambiente. (ALMEIDA, 2020).



Figura 2: Mecanismos de transferência de calor no equino Fonte: Adaptado de Veterian Key (www.veteriankey.com).

Na criação de animais, o microclima gerado dentro de uma instalação ou baia é definido pela combinação de variáveis termodinâmicas do ar ambiente, umidade, temperatura, densidade animal e condições alimentares. Logo, é importante saber que o limite de temperatura ideal para os animais depende da espécie, raça, idade, dentre outros fatores (PIRES & CAMPOS, 2008; SILVA, 2012).

Diante do exposto, conclui-se que os mecanismos da termorregulação têm como objetivo promover o equilíbrio térmico no organismo animal, o ganho e produção de calor sejam equivalentes à perda de calor. Quando um animal não consegue manter a homeostase ocorre o estresse térmico que leva à diminuição de sua disponibilidade de energia para funções não vitais, como produção e reprodução (BICHUETTI, 2022).

2.4. Conforto térmico animal

O conforto térmico é obtido quando o animal se encontra em um ambiente de equilíbrio térmico. Nessa situação, o calor que o organismo do animal produz, mais o que ele ganha do ambiente é igual ao calor perdido por intermédio da condução, da radiação, da convecção, da evaporação e do calor contido nas substâncias corporais eliminadas, sem que haja dispêndio energético (TAKAHASHI et al., 2009).

Existem limites de temperatura nos quais os animais encontram-se na “zona de conforto térmico” (ZCT), onde mantém a homeotermia com o mínimo de esforço do sistema termorregulador, não havendo sensação de frio ou calor, mas quando a temperatura ambiente ultrapassa estes limites, os animais passam a sofrer estresse térmico (BACCARI JUNIOR, 2001). Diante disso, na espécie equina a temperatura corporal média varia de 37,4 a 38,3 e a zona de conforto térmico vai de -1°C a 25°C (MALSCHITZKY, 2010).

Para caracterizar o ambiente térmico são mensurados aspectos do microclima tais como: radiação solar, temperatura do ar, umidade relativa do ar e velocidade do vento. Os efeitos destas variáveis afetam os animais de forma direta e/ou indireta, influenciando sua produtividade (PIRES & CAMPOS, 2008; SILVA, 2012). De maneira geral, a temperatura do ar entre 13 e 18°C e umidade relativa entre 60 e 70% correspondem às condições as quais a maioria dos animais não tem dispêndio de energia para manter a homeotermia (OLIVEIRA et al., 2014).

O oferecimento de conforto térmico para os animais está ligado diretamente ao aumento de produtividade animal, ou seja, ao fornecimento das condições necessárias para a expressão de seu potencial genético (BELAY & TEETER, 1993). Com a importância que o bem-estar animal tem assumido na medicina veterinária, na produção animal e no meio científico, tornou-se imprescindível a utilização de técnicas e equipamentos não invasivos que prezem pelo conforto e bem-estar animal, destacando-se assim, a termografia de infravermelho (ROBERTO & SOUZA, 2014).

2.5. Índices de estresse térmico animal

Os índices de estresse térmico descrevem os efeitos do ambiente sobre a habilidade dos animais em dissipar calor (SILVA et al., 2009), apresentando em uma única variável, tanto os fenômenos meteorológicos (temperatura, umidade relativa do ar, velocidade do vento e radiação solar) como o desconforto que tal ambiente possa estar causando (MARTELLO et al., 2004).

Os mais utilizados são os índices de temperatura e umidade (ITU), proposto por Thom (1959) e o índice de temperatura de globo negro e umidade (ITGU), de Buffington et al. (1981). Os valores de ITU são calculados a partir dos efeitos combinados da temperatura do ar e da umidade relativa e expresso em termos adimensionais. O ITU pode ser obtido pela seguinte equação:

$$ITU = t_a + 0,36t_{po} + 41,5$$

Em que:

t_a = temperatura do ar (°C);

t_{po} = temperatura de ponto de orvalho (°C).

Para animais criados a pasto, Buffington et al. (1981) desenvolveram o Índice de Temperatura de Globo e Umidade (ITGU), que considera a temperatura do globo negro e a temperatura do ponto de orvalho. Segundo os autores, é um indicador de desconforto ambiental mais acurado que o ITU, uma vez que, a temperatura de globo negro é uma maneira de indicar os efeitos combinados da radiação, do vento e sua influência no organismo vivo.

O ITGU é estimado conforme a seguinte equação: $ITGU = t_{gn} + 0,36t_{po} + 41,5$

Em que:

t_{gn} - temperatura de globo negro, °C;

t_{po} - temperatura do ponto de orvalho, °C.

Da mesma forma, outro índice foi idealizado na Venezuela e desenvolvido por Benezra (1954) para avaliar a existência de conforto térmico de animais criados em regiões tropicais considerando fatores relevantes a frequência respiratória e temperatura retal dos animais. Esse teste é considerado “medida de adaptabilidade” pois permite verificar a capacidade do animal em manter sua homeotermia

(MORAES, 2010). A fórmula de Benezra é: $ICB = TR/38 + FR/16$, onde TR é temperatura retal e FR é a frequência respiratória mensurada em movimentos por minuto (BENEZRA, 1954). Valores próximos a 2 são considerados como de maior conforto animal, significando que os animais estariam apresentando temperatura retal e frequência respiratória ideal (BENEZRA, 1954; GARCIA et al., 2011). Outra forma de avaliar o estresse térmico em cavalos, foi utilizado por Jones, (2009) na qual, registra-se, por meio de sensor, a temperatura do ar (°C) e umidade relativa do ar (%) sendo calculadas na seguinte fórmula:

$$CI = \text{Temperatura do Ar (°F)} + \text{Umidade Relativa (\%)}$$

Quando submetido à situação de estresse por calor os animais podem apresentar vasodilatação, sudorese, aceleração do ritmo respiratório, diminuição do apetite e redução do metabolismo, diminuem a ingestão de alimentos, conseqüentemente limitando os substratos metabólicos disponíveis para o metabolismo, desta forma, reduzindo a produção de calor (TAKAHASHI et al., 2009).

2.6. Termorregulação testicular

Os animais homeotérmicos conseguem manter sua temperatura corporal dentro dos limites fisiológicos, desde que a temperatura ambiental não atinja valores extremos (BRIDI, 2010). Em situação de estresse térmico, lançam mão de mecanismos compensatórios para atingir e manter a homeostase térmica (FONSECA et al., 2014). Nesta perspectiva, o controle da temperatura testicular se faz necessário, pois todos os processos que ocorrem no testículo para um funcionamento correto necessitam de uma faixa de temperatura ideal de ~3-5°C abaixo da corporal, condição indispensável à espermatogênese. (RIZZOTO, 2022). Proteínas e enzimas podem ser desnaturadas e as reações químicas e físicas ocorrem mais rapidamente ou lentamente em função do gradiente de temperatura existente no meio em que se encontram (RHOADES & TANNER, 2005). Com o aumento da temperatura e estresse térmico testicular, pode haver maior produção das espécies reativas de oxigênio e alterações hormonais causando efeitos deletérios nas células germinativas (YATOO et al., 2014; ALVES et al., 2016; RIZZOTO, 2022).

Quando os mecanismos termorregulatórios falham e a temperatura testicular eleva-se acima da fisiológica, favorece rápidas mudanças na perfusão sanguínea e expressão gênica testiculares seguidas pela deterioração da qualidade seminal (ROSSI et al., 2021; RIZZOTO et al., 2022).

O dogma central da degeneração testicular era que sob estresse térmico, eleva-se a taxa metabólica sem que houvesse aumento correspondente do seu fluxo, o que gerava hipóxia e morte celular (WAITES AND SETCHELL, 1964). Contudo, estudo recente vem mudando essa concepção (KASTELIC et al., 2017). Em carneiros submetidos ao estresse térmico sob três diferentes concentrações ambientais de oxigênio (hiperóxia, normóxia e hipóxia), os impactos reprodutivos causados pelo estresse térmico, não foram replicados pela hipóxia e nem prevenidos pela hiperóxia, evidenciando, que os efeitos deletérios eram causados pelo aumento da temperatura por si só, e não da hipóxia testicular (KASTELIC et al., 2017). Entretanto, contrapondo tal afirmação, segundo COLLI (2019) o testículo consiste em uma alta taxa metabólica tecidual e qualquer redução no fluxo sanguíneo afetará negativamente a espermatogênese e a morfologia testicular.

Nesse sentido, é essencial manter o equilíbrio térmico desse órgão e o controle da temperatura testicular só é possível através de mecanismos fisiológicos envolvendo o escroto, cone vascular testicular e os testículos (KASTELIC et al., 1997). O plexo pampiniforme, a túnica dartos, o músculo cremáster e as glândulas sudoríparas escrotais são fundamentais para o controle da termorregulação local (figura 3). Essas estruturas funcionam de maneira integrada para garantir que a temperatura testicular fique abaixo da temperatura corporal (ALVES et al., 2016).

O escroto possui rica vascularização subcutânea facilitando a dissipação de calor, em conjunto com as fibras musculares da túnica dartos, que mantem a temperatura dos testículos adequada por meio do relaxamento ou contração de suas fibras (TANIGUTI & BIRCK, 2015). Esse mecanismo é importante, pois o relaxamento das fibras permite a dilatação dos vasos sanguíneos internos que vascularizam a região e, conseqüentemente, favorecem maior perda de calor. Já em situações de baixa temperatura, as fibras musculares contraem, ocorrendo uma redução da superfície de contato dos testículos com ambiente e ocorre também redução do aporte sanguíneo para a pele do escroto, reduzindo a perda de calor para o meio (GIBSON et al., 2002).

O músculo cremáster também está envolvido nos mecanismos de controle da temperatura interna dos testículos, pois a partir de sua contração ou relaxamento pode causar aproximação ou distanciamento dos testículos em relação ao corpo, favorecendo o equilíbrio térmico exigido para uma adequada espermatogênese (FERRAZ et al., 2016). As glândulas sudoríparas estão distribuídas em grande número no escroto, pois por meio da sudorese ocorre a dissipação de calor em condições de aumento de temperatura testicular (DYCE et al., 2004).

Outro mecanismo adotado para regulação da temperatura testicular ocorre a partir do cone vascular, localizado logo acima dos testículos, constituído pela artéria testicular estreitamente enrolada e enovelada pelo plexo pampiniforme, uma rede venosa altamente anastomosada, permitindo a troca por contracorrente de calor, a regulação do fluxo sanguíneo e a perda de calor por irradiação (BARROS et al., 2011). O mecanismo de contracorrente favorece a transferência de calor do sangue arterial para o venoso e reduz a temperatura do sangue intra testicular. Quanto mais longa a artéria testicular, maior a capacidade de transferência de calor dentro do cone vascular, resultando em transferência de mais calor da artéria para o sistema venoso e menor temperatura para a superfície escrotal (BARROS et al., 2011).

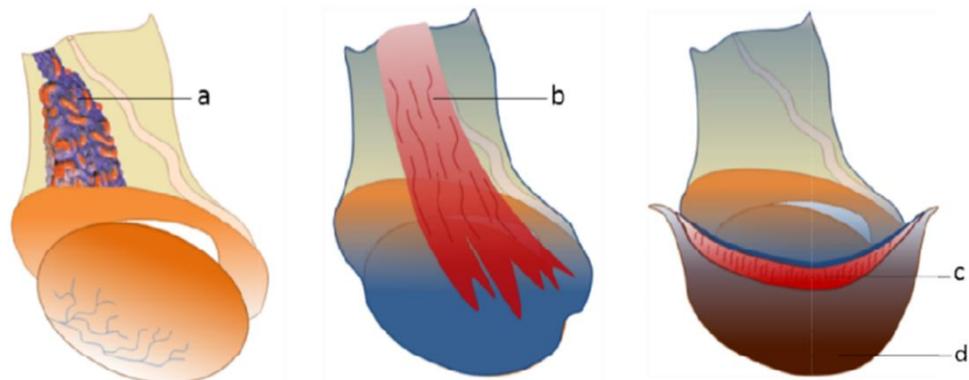


Figura 3. Mecanismos que asseguram a termorregulação testicular no homem: a) Plexo pampiniforme; b) músculo cremáster; c) túnica dartos; d) Epiderme delgada rica em glândulas sudoríparas. Adaptado de Sancler-Silva, 2021.

Em estudos realizados, verificou-se os efeitos do aumento da temperatura pela técnica de insulação submetida ao escroto de ovinos, demonstrando que a permanência em uma temperatura média de 37, 2 °C por sete dias, resultou em decréscimo acentuado na motilidade e redução da concentração espermática, principalmente por danos aos espermatozoides. Observou-se quadro de azoospermia entre 33 e 50 dias de insulação testicular (MOREIRA, 2001).

Como o estresse térmico testicular apresenta grande impacto sobre a reprodução dos machos, o diagnóstico precoce e preciso, associado a correções ou tratamento poderia evitar as perdas nas características do ejaculado, uma vez que os efeitos do aumento da temperatura testicular podem ser reversíveis, principalmente pela característica de termotolerância de algumas das células da linhagem germinativa (MOREIRA, 2001).

2.6. Avaliação termográfica por infravermelho

A termografia é definida como uma técnica de exame por imagem, não-invasivo que identifica e mensura a energia térmica emitida por corpos e superfícies fornecendo informações de temperatura através de cores visíveis. Esta energia é invisível ao olho humano por estar dentro da faixa de comprimento de onda infravermelho. Desse modo, a câmera termográfica captura e identifica a energia térmica emitida pela superfície analisada, transformando-a em imagens visíveis ao olho humano, podendo através delas diagnosticar doenças ou mudanças de funções fisiológicas (ALTOÉ e OLIVEIRA FILHO, 2012).

A radiação infravermelha foi descoberta em 1800 pelo astrônomo Willian Herschel. Ele realizou a dispersão da luz solar através de um prisma de vidro e mediu a temperatura correspondente a cada cor utilizando um termômetro. Observou que a temperatura das cores aumentava à medida que se aproximava do vermelho. Houve um aumento ainda maior de temperatura na região após a luz vermelha. Apesar de não ser captada pelos olhos humanos, ficou evidente a existência de uma radiação nesta faixa a qual ficou conhecida como radiação infravermelha (OLIVEIRA & SILVA, 2014).

Também há relatos sobre observações do médico grego Hipócrates, que espalhava lama no corpo dos pacientes, concluindo que, no local onde a lama secava

primeiramente era mais quente, portanto, nessa região se processava a enfermidade (BRIOSCHI, 2003). De acordo com ADAMS (1990): “Hipócrates descobriu que quando uma parte do corpo é mais quente ou mais fria do que o restante, é um indicativo de que a doença está presente nesta parte”. Sabe-se que pequenas mudanças termogênicas em tecidos específicos podem refletir doenças ou mudanças da função fisiológica. (ROBERTO & SOUZA, 2014).

Ao longo dos anos, o desenvolvimento de sistemas de imagem infravermelha menos dispendiosos (termógrafos, ou câmeras termográficas) facilitou a avaliação quantitativa e objetiva das variações e padrões de comportamento da temperatura da pele humana e animal. Assim, com o tempo, as avaliações empíricas da termografia adquiriram um nível cientificamente aceito. Atualmente, os equipamentos são cada vez mais compactos, portáteis e possuem softwares modernos específicos para leitura das imagens, propiciando o uso dessa tecnologia de maneira cada vez mais quantitativa e qualitativa (MELO, 2017).

A técnica termográfica tem sido utilizada na medicina veterinária desde 1966, e possui aplicações em diversas áreas (CARVALHO, 2018). Ressaltam-se: utilização nos animais de produção para avaliação de rebanhos detectando animais com febre; em animais silvestres pela não necessidade de contenção, minimizando o estresse da manipulação; em cães e gatos na avaliação de vascularização de tumores e retalhos cutâneos; em equinos para diagnóstico e prognóstico de claudicação, avaliação de condicionamento físico, análise da termorregulação, além das alterações na vascularização superficial corpórea (MELO, 2017).

Nesse sentido, diversos trabalhos de pesquisa recentes têm investigado a relação entre imagens de termografia de partes da superfície corporal de animais associadas com variáveis meteorológicas, com indicadores fisiológicos de bem-estar e desempenho animal (MONTANHOLI et al., 2008; MARTELLO et al., 2015; RICCI et al., 2019).

- **FORMAÇÃO DA IMAGEM TERMOGRÁFICA**

O espectro eletromagnético é composto de ondas de comprimento que vão desde os raios gama mais curto para raios-X, luz ultravioleta, visível, microondas, infravermelho e as ondas mais longas do rádio. Dentro desse espectro, os humanos

percebem apenas uma região muito pequena conhecida como luz visível (EDDY et al., 2001).

A radiação infravermelha, é emitida pela superfície de objetos ou corpos, associada ao grau de agitação de seus átomos e moléculas e detectada por câmeras térmicas. Os sensores presentes nas câmeras térmicas são capazes de captar essa radiação infravermelha e transforma-las em imagens possibilitando a visualização e avaliação da temperatura associada a este tipo de radiação (RODRIGUES, 2022).

As câmeras térmicas ou termógrafos geram imagens com base na quantidade de calor gerado, em vez de refletida. Os dois parâmetros mais importantes para um termógrafo são sensibilidade e resolução. Sensibilidade está relacionada a menor capacidade de leitura de um equipamento. Os sensores com sensibilidade moderada podem detectar diferenças de temperatura na ordem de $0,1^{\circ}\text{C}$ e os de boa qualidade sensibilidade até quatro vezes menores ou $0,025^{\circ}\text{C}$. A resolução espacial do sensor é determinada pela quantidade de pixels que expressa a imagem em um quadrante (EDDY et al., 2001)

Em relação ao aparelho, as câmeras por infravermelho atualmente possuem tecnologia que permite captar medidas em tempo real, são portáteis, leves, de fácil manuseio, apresentam grande precisão e sensibilidade com boa capacidade para armazenar grandes quantidades de dados. Com isso, este exame vem assumindo, papel cada vez mais relevante como método apropriado de análises em diversos segmentos (ROBERTO & SOUZA, 2014).

2.7. Avaliação termográfica na reprodução do macho

A termografia por infravermelho consegue identificar mudanças de temperatura na superfície testicular, que podem levar ao comprometimento da espermatogênese em equinos (RAMIRES et al., 2013), bovinos (KASTELIC, 2014; MENEGASSI et al., 2015; RUEDIGER et al., 2016), e ovinos (CRUZ JÚNIOR et al., 2015). Recentemente, foi descrita agregando informações no exame andrológico (LLOYD-JONES et al., 2015, RUEDIGER et al., 2016), pois é necessária a manutenção da temperatura testicular abaixo da temperatura corporal para a produção de espermatozoides com capacidade fecundante (RUEDIGER et al., 2016). Por isso, o monitoramento da temperatura testicular tem contribuído para uma melhor compreensão e avaliação da

função reprodutiva do macho (NICHI et al., 2006). Estudo realizado em equinos de diferentes idades, investigou a existência de correlação entre o controle da temperatura da superfície escrotal e a qualidade do sêmen antes e após a exposição ao sol, avaliando a capacidade de termorregulação desses animais. Verificou-se correlação positiva de média intensidade entre a temperatura da superfície do escroto e os defeitos considerados maiores ($r = 0,32$) e a temperatura da superfície escrotal e as alterações morfológicas na cabeça dos espermatozoides ($r = 0,33$). Os resultados indicaram que o aumento da temperatura influenciou negativamente a morfologia espermática, resultando em aumento de alterações morfológicas. (RAMIRES et al., 2013).

Em outra pesquisa verificou-se que o aumento na temperatura do escroto associado com o aumento da temperatura retal dos animais, resultou em alteração dos parâmetros do ejaculado: motilidade espermática, concentração, espermatozoides totais e espermatozoides viáveis totais do ejaculado. Houve também correlações positivas de baixa a média intensidade entre a temperatura dos pontos dos testículos com a motilidade, concentração, espermatozoides viáveis totais e uma correlação negativa de média intensidade entre os parâmetros seminais e os dados bioclimáticos (RUEDIGER et al., 2016).

Estudo avaliando termogramas de cordão espermático, no terço dorsal, médio e ventral dos testículos e cauda dos epidídimos de touros adultos, jovens e sexualmente maduros, constataram que esses possuem a temperatura superficial escrotal semelhante. Porém, quando avaliaram dentro do mesmo grupo, animais jovens ou adultos, perceberam uma variação significativa da temperatura nos diferentes pontos anatômicos mensurados (SOUZA et al., 2017).

Pesquisa realizada com cavalos da raça Mangalarga Marchador criados no clima tropical quente e úmido, avaliou o perfil termográfico escrotal para verificar a influência da temperatura ambiental sobre qualidade seminal. Foi apontado que os animais mantiveram a temperatura testicular em torno de 34°C , dentro das condições favoráveis à espermatogênese, demonstrando a eficiência dos mecanismos de termorregulação da raça e adaptação climática às condições locais. Além disso, a termografia também serviu para complementar o exame andrológico (MACHADO, 2021).

Os fatores ambientais são determinantes para o estresse térmico. Animais não adaptados ou com problemas na termorregulação testicular podem apresentar

alterações seminais frente a uma condição de temperatura ou umidade inadequada (MACHADO, 2021).

Por isso, a termografia digital por infravermelho desempenha papel importante no monitoramento da temperatura do corpo dos animais e outras estruturas, colaborando no diagnóstico precoce de patologias, pois é dotada da capacidade de identificação de mínimas variações térmicas (CHACUR, 2017).

2.8. Ultrassonografia (US) Doppler

A US é um exame que utiliza ondas sonoras de alta frequência para produzir imagens em variados cortes dos tecidos e órgãos internos e externos inspecionando tais estruturas corpóreas de maneira não invasiva. (SILVA et al., 2015). Uma característica em crescimento do ultrassom com potencial de aprimorar a capacidade diagnóstica, profundidade e amplitude dos testes de hipóteses em pesquisas é a imagem Doppler do fluxo sanguíneo. As imagens em modo B localizam uma área ou estrutura de interesse para avaliação Doppler e servem como plano de fundo para a representação colorida do fluxo sanguíneo (GINTHER & UTT, 2004).

O deslocamento Doppler ou frequência Doppler é definido como a diferença entre a frequência das ondas transmitidas e a frequência dos ecos recebidos. A técnica no efeito Doppler se baseia em alterações nas frequências das ondas emitidas ou refletidas por um objeto em movimento, em relação a um objeto estático (GINTHER & UTT, 2004). Com foco no fluxo sanguíneo, as hemácias são os corpos refletores em movimento e o transdutor corresponde ao observador. Dentro da caixa colorida, cada ponto móvel tem uma tonalidade de vermelho ou azul, ao invés de tons de cinza (CERRI et al., 1998). Assim, conforme a velocidade e a direção das hemácias mudam, as imagens ultrassonográficas apresentam cores e tonalidades diferentes (VERMILLON, 1997). Os fluxos de maior velocidade possuem tonalidades mais claras da mesma cor e os de velocidade menor possuem tonalidades mais escuras (CERRI et al., 1998). Esse tipo de representação das US Doppler sobrepõe à imagem no modo B as regiões coloridas referem-se às velocidades do fluxo sanguíneo; desta forma a extensão da área vascularizada pode ser estimada e avaliada de modo subjetivo em tempo real e objetivo por análises das imagens

gravadas, permitindo melhor avaliação funcional da estrutura avaliada (SILVA, 2021).

Outro tipo de representação das imagens na US Doppler é o modo espectral, o qual avalia os vasos sanguíneos, produzindo na tela uma representação gráfica da dinâmica vascular em forma de onda senoidal onde cada ciclo representa um ciclo cardíaco completo. As análises dessa onda permitem encontrar dados relacionados às velocidades do ciclo cardíaco e características do fluxo sanguíneo, por exemplo: volume por minuto. Em vasos de pequeno calibre e tortuosos, onde cortes longitudinais não são possíveis, este modo permite a utilização de índices para mensurar a hemodinâmica do órgão ou tecido (SILVA, 2021).

A US na modalidade Doppler se tornou o método diagnóstico de escolha na avaliação da vascularização de vários órgãos, incluindo os testículos (POZOR & MCDONNEL, 2002). No sistema reprodutor do macho essa técnica fornece informações sobre as glândulas sexuais e do parênquima testicular dos reprodutores, permitindo diagnosticar alterações andrológicas como: cicatrizes, neoplasias e abscessos, ainda assintomáticas aos exames convencionais (TEIXEIRA et al., 2011).

Além disso, sabe-se que suprimento sanguíneo adequado é crucial para a função testicular e que lesões vasculares afetam a espermatogênese e o volume testicular podendo ocasionar danos na produção espermática do testículo afetado e do contralateral (POZOR, 2007). Ademais, o testículo consiste em uma alta taxa metabólica tecidual e qualquer redução no fluxo sanguíneo afetará negativamente a espermatogênese e a morfologia testicular (COLLI, 2019).

Na medicina humana, a US Doppler é utilizada para avaliar o fluxo sanguíneo da artéria testicular e condições patológicas, que estão associadas à alternância do fluxo sanguíneo (AKAND, 2017). Recentemente, tem sido aplicada na avaliação do fluxo sanguíneo testicular em espécies domésticas como camelos (KUTZLER, 2011), garanhões (ORTIZ-RODRIGUEZ, 2017), touros (GLÓRIA, 2018), carneiros (HÉDIA, 2019), cães (TRAUTWEIN, 2020) e cabras (SAMIR, 2020).

A artéria testicular é considerada a principal via de suprimento sanguíneo testicular originando-se diretamente da superfície ventral da aorta abdominal, e seu diâmetro é maior no carneiro do que outros animais de médio e pequeno porte (NOORDHUIZEN-STASSEN, 1985). Três regiões da artéria testicular são utilizadas para avaliação do fluxo sanguíneo para o testículo e diferenças hemodinâmicas entre essas regiões têm sido relatadas. Tais regiões são definidas como

supratesticulares (no cordão espermático), marginais (na borda epididimal do testículo) e intratesticulares (figura 4) (CARRILLO 2012; SOUZA, 2014; ORTIZ-RODRIGUEZ, 2017). A região supratesticular é a mais importante, sendo frequentemente utilizada na avaliação do fluxo sanguíneo testicular em carneiros (NTEMKA, 2018).

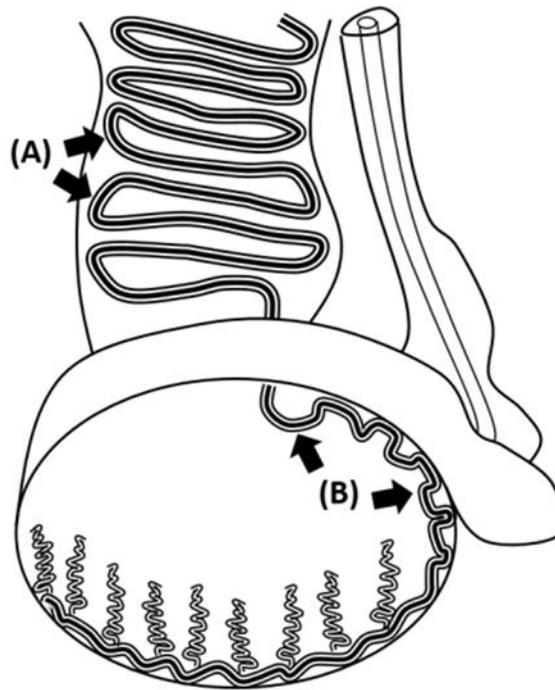


Figura 4. Representação esquemática dos locais de mensurações do Doppler no cordão espermático (A) e a na artéria marginal (B). Adaptado de Monteiro, 2017.

Os índices Doppler comparam o fluxo durante a sístole e a diástole dos vasos arteriais no ciclo cardíaco (NOVELLAS et al., 2007). A proporção sistólica/ diastólica, (S/D) o índice de resistividade (RI) e de pulsatilidade (PI), fornecem informações acerca da resistência arterial ao fluxo sanguíneo, indicando alterações que resultam de uma variedade de enfermidades (SIGEL, 1998; MERRITT, 1999; NOVELLAS et al., 2007).

O índice de resistividade (RI) indica a resistência do fluxo sanguíneo causado pelo leito microvascular distal ao local de medição. Inversamente, o índice de pulsatilidade (PI) quantifica a pulsatilidade da forma de onda. O aumento do RI e PI indica diminuição da perfusão do tecido distal (ORTEGA-FERRUSOLA et al., 2014). O RI um bom indicador da funcionalidade do tecido testicular, além de identificar

precocemente transtornos reprodutivos (PINGGERA et al., 2008; POZOR et al., 2014).

Além disso, o RI da artéria testicular pareceu ser a medida clínica mais útil do fluxo sanguíneo para e dentro do testículo e epidídimo (POZOR & McDONNELL, 2004).

Através da caracterização do fluxo sanguíneo testicular pela US Doppler torna-se possível, a avaliação objetiva dos testículos do garanhão nos casos de doenças escrotais. Esta tecnologia pode vir a ser utilizada, com frequência e na rotina, para a avaliação testicular, tornando-se importante aliada do médico veterinário. (POZOR, 2004).

Entretanto, avaliação testicular em garanhões utilizando a US ainda é negligenciada na rotina da clínica médica reprodutiva. Contudo, a incorporação dessa técnica de diagnóstico por imagem no exame andrológico de equinos permite maior precisão no diagnóstico de enfermidades reprodutivas e conseqüentemente na classificação da qualidade seminal e fertilidade desses animais.

3. OBJETIVOS:

3.1. Objetivo Geral:

Avaliar o potencial reprodutivo de garanhões criados em baia, no verão e inverno, através da avaliação seminal e suas interrelações com temperatura superficial escrotal, perfusão testicular e conforto térmico na região Norte Fluminense do estado do Rio de Janeiro.

3.2. Objetivos específicos:

- Determinar a temperatura ambiental e umidade relativa do ar nos criatórios de garanhões no verão e inverno;
- Determinar a temperatura corporal de garanhões, no verão e inverno;
- Determinar a temperatura da superfície testicular de garanhões pela

termografia de infravermelho, no verão e inverno;

- Avaliar a vascularização testicular em garanhões, por meio da ultrassonografia Doppler, no verão e inverno;
- Mensurar a biometria testicular de garanhões, no verão e inverno;
- Avaliar a concentração, morfologia e cinética do sêmen em garanhões criados em baia, no verão e inverno, na Região Norte do Estado do Rio de Janeiro.

CAPITULO I

Os resultados desta dissertação são apresentados na forma de artigo científico, com sua formatação de acordo com as orientações da revista a que foi submetido:

Avaliação do potencial reprodutivo de garanhões através do espermograma, termografia infravermelha e ultrassonografia Doppler

De acordo com normas para publicação em: Ciência Rural.

Avaliação do potencial reprodutivo de garanhões através do espermograma, termografia infravermelha e ultrassonografia Doppler

Evaluation of the reproductive potential of stallions through sperm analysis, infrared thermography and Doppler ultrasonography

Resumo

O melhoramento genético em garanhões é baseado nas características fenotípicas desejáveis, abdicando muitas vezes da qualidade seminal. O objetivo desse estudo foi avaliar a fertilidade de 24 garanhões de diferentes raças, com idade média de $7,46 \pm 3,69$ anos, durante os períodos de verão (dezembro a março) e inverno (julho a setembro) e criados na região Norte Fluminense (RJ). Foram feitas imagens termográficas testiculares, mensuração dos parâmetros fisiológicos e ambientais, biometria testicular, ultrassonografia Doppler da artéria testicular e coletas de sêmen. As diferenças entre períodos foram analisadas por ANOVA de uma via, com nível de significância de 5%. A temperatura ambiental e umidade relativa do ar diferiram entre os dois períodos, sendo superiores no verão ($28,94 \pm 3,00^\circ\text{C}$ e $21,58 \pm 2,21^\circ\text{C}$) versus o inverno ($75,48 \pm 9,54\%$ e $70,25 \pm 9,16\%$). Houve aumento da frequência respiratória no verão ($p < 0,05$), a qual foi associada ao desconforto térmico. A temperatura superficial escrotal esteve $1,1^\circ\text{C}$ ($32,56 \pm 0,04^\circ\text{C}$) superior a observada no inverno ($31,39 \pm 0,02^\circ\text{C}$). As temperaturas corporais e escrotais no verão diferiram em 5°C e no inverno $5,8^\circ\text{C}$ (Δ). As variáveis volume testicular total, motilidade espermática, vigor e volume seminal não diferiram entre os dois períodos. A concentração espermática, defeitos totais e o índice de resistividade da artéria testicular esquerda, foram maiores no verão do que no inverno. Conclui-se que no verão, os garanhões da região Norte Fluminense (RJ) apresentam estresse térmico resultando em taquipnéia como indicativo de defesa do organismo submetido ao calor, e que o aumento da temperatura ambiental e testicular no verão, acarretou um maior número de espermatozoide com defeitos, gerou alterações de impedância artéria testicular esquerda, causada também pelo tempo maior de permanência na cavidade

abdominal. Entretanto, tais alterações encontradas no verão, não foram suficientemente capazes de condenar a fertilidade dos garanhões estudado.

Palavras-chave: equino, sêmen, termorregulação, fertilidade, bem-estar animal

Abstract

Genetic improvement in stallions is based on desirable phenotypic characteristics, often abdicating seminal quality. The objective of this study was to evaluate the fertility of 24 stallions of different breeds, with a mean age of 7.46 ± 3.69 years, during the summer (December to March) and winter (July to September) periods and raised in the North Fluminense (RJ). Testicular thermographic images, measurement of physiological and environmental parameters, testicular biometry, Doppler ultrasonography of the testicular artery and semen collections were performed. Differences between periods were analyzed by one-way ANOVA, with a significance level of 5%. Environmental temperature and relative humidity differed between the two periods, being higher in summer ($28.94 \pm 3.00^\circ\text{C}$ and $21.58 \pm 2.21^\circ\text{C}$) versus winter ($75.48 \pm 9.54\%$ and $70.25 \pm 9.16\%$). There was an increase in respiratory rate in the summer ($p < 0.05$), which was associated with thermal discomfort. Scrotal surface temperature was 1.1°C ($32.56 \pm 0.04^\circ\text{C}$) higher than that observed in winter ($31.39 \pm 0.02^\circ\text{C}$). Body and scrotal temperatures differed by 5°C in summer and 5.8°C (Δ) in winter. The variables total testicular volume, sperm motility, vigor and seminal volume did not differ between the two periods. Sperm concentration, total defects and left testicular artery resistivity index were higher in summer than in winter. It is concluded that in the summer, the stallions of the North Fluminense region (RJ) present thermal stress resulting in tachypnea as an indication of defense of the organism subjected to heat, and that the increase in the ambient and testicular temperature in the summer, led to a greater number of spermatozoa with defects, generated changes in the left testicular artery impedance, also caused by the longer time spent in the abdominal cavity. However, such alterations found in the summer were not sufficiently capable of condemning the fertility of the studied stallions.

Keywords: equine, semen, thermoregulation, fertility, animal welfare

INTRODUÇÃO

A criação de cavalos com alto valor zootécnico visa produzir descendentes que, no futuro, possam apresentar desempenho atlético semelhante e/ou superior ao seu progenitor (MANAF, 2011). No garanhão, a fertilidade e a produção de células germinativas necessitam de um adequado aporte sanguíneo testicular suprindo as gônadas com oxigênio, nutrientes e hormônios. (VELASCO, 2021). Para que não haja comprometimento da produção espermática, os testículos necessitam de uma faixa de temperatura ideal de ~3-5°C abaixo da corporal (RIZZOTO & KASTELIC, 2019). Para que a temperatura testicular mantenha-se ideal o plexo pampiniforme, a túnica dartos, o músculo cremáster e as glândulas sudoríparas escrotais fazem o controle da termorregulação local, funcionando de maneira integrada com mecanismos fisiológicos (ALVES et al., 2016). A temperatura ambiental e umidade relativa do ar interferem diretamente na termorregulação testicular, pois podem influenciar no conforto térmico ambiental e capacidade de adaptação dos animais as condições climáticas, determinando assim o sucesso da atividade reprodutiva e expressão máxima do potencial genético (BELAY & TEETER, 1993; FURLAN et al., 2006).

Alterações vasculares testiculares afetam diretamente a produção espermática e são causas comuns de subfertilidade em garanhões (ORTEGA-FERRUSOLA et al., 2014; ORTIZ-RODRIGUEZ et al., 2017). A ultrassonografia Doppler surgiu com objetivo de permitir exames mais detalhados e transmitir informações sobre vascularização e arquitetura dos vasos (CARVALHO et al., 2008). Na andrologia vem sendo aplicada para avaliar a perfusão testicular (POZOR E MCDONNELL, 2004), que está ligada ao bom funcionamento de testículos e epidídimos e diagnóstico de suas patologias. (GUENZEL-APEL et al., 2001).

A atividade reprodutiva nos cavalos é regulada por um ritmo endógeno sincronizado por estímulo ambiental (fotoperíodo). Estes estímulos são transmitidos pelo sistema neuroendócrino em sinais hormonais que regulam a atividade gonadal (GORMAN E ZUCKER, 1995). Desta forma, os cavalos possuem a capacidade reprodutiva máxima nos dias longos, principalmente no verão (CLAY E CLAY, 1992). Na região Norte do Estado do Rio de Janeiro, o clima é quente durante o verão (temperatura média de 26.4°C), e frio no inverno (temperatura média de 21.2°C) apresentando também um período longo de seca nessa estação (CLIMATE-DATA.ORG, 2019; RUA, 2014).

O objetivo desse estudo foi avaliar a qualidade espermática de garanhões no verão e no inverno e suas interrelações com a temperatura superficial escrotal, perfusão testicular e conforto térmico. A hipótese é que a temperatura ambiental interfere na qualidade espermática dos garanhões.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1) *Local de estudo, espécie, caracterização climática e manejo*

Esse experimento foi aprovado pela Comissão de Ética no uso de Animais CEUA/Universidade Estadual do Norte Fluminense “Darcy Ribeiro” (protocolo nº 513/2021). Todos os procedimentos foram consentidos e autorizados pelos proprietários.

Foram utilizados 24 garanhões, com $7,46 \pm 3,69$ anos, das raças Quarto de Milha (n=7), Paint Horse (n=4) e Mangalarga Marchador (n=13). Os animais eram criados em baias individuais (3x4 metros), com acesso a água e sal mineral para equinos ad libitum. Recebiam dieta balanceada a base de feno tifton (*Cynodons* sp.) e concentrado adequado para categoria (garanhões em manutenção -14% de proteína total) na proporção de 1% do seu peso corporal. Os animais eram provenientes de criatórios situados na região norte do estado do Rio de Janeiro, Brasil (Latitude - 21° 45'15”, longitude -41° 19'28”, altitude 13 metros). A região é caracterizada por clima tropical predominantemente quente e úmido, maior pluviosidade no verão (dezembro a março) com temperatura ambiental média de 26.4°C e umidade relativa do ar de 79.07% no verão e temperatura ambiental média de 21.2°C e umidade relativa do ar de 70.77 % no inverno (CLIMATE-DATA.ORG, 2019).

A eficiência reprodutiva bem como a verificação da existência de alguma patologia reprodutiva foi averiguada antes do início do estudo por meio do exame andrológico como preconizado pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 2013). Somente animais hígidos e sem alterações clínico-reprodutivas foram incluídos no estudo. Os animais selecionados foram avaliados em dois diferentes momentos, no verão e inverno.

2.2) Avaliação termográfica por infravermelho, parâmetros fisiológicos e bioclimáticos

As avaliações termográficas por infravermelho, foram realizadas no início da manhã (08:00h/am) com os animais mantidos em baia fechada por um tempo mínimo de 1 hora antes do exame. Para a determinação da temperatura superficial testicular, utilizou-se um aparelho de termografia digital por infravermelho -Termovisor FLIR¹ E53, sendo o foco emissor do aparelho direcionado para o escroto de cada garanhão, orientado, paralelamente, a 1m de distância e emissividade $\epsilon = 0,98$ (recomendado para espécie equina) e modo “manual”. O ajuste de temperatura foi selecionado para uma faixa de leitura de 10° C de acordo com a temperatura ambiental do dia e a paleta de cores utilizada foi a rainbow (BASILE, 2010). As temperaturas e imagens térmicas foram obtidas através da mensuração de pontos distintos da superfície escrotal e calculada a média, de ambos os testículos, pelo software FLIR Tools^{®2} (versão 5.12.17023.2001). Posteriormente foi mensurada frequência cardíaca (FC, em bat/min), por meio de auscultação durante um minuto, frequência respiratória (FR, em mov/min), por meio da contagem do movimento respiratório do gradil costal durante um minuto, temperatura retal (TR, em °C), por meio de termometria clínica convencional, durante dois minutos. A temperatura ambiental e umidade relativa do ar foram mensuradas pelo medidor de estresse térmico TGBH³ (modelo HT30).

2.3) Biometria testicular

Após realização do exame termográfico, foram realizadas mensurações testiculares. O comprimento testicular esquerdo (CTE), comprimento testicular direito (CTD), largura testicular esquerda (LTE), largura testicular direita (LTD), altura testicular esquerda (ATE), altura testicular direita (ATD) foram mensurados com auxílio de paquímetro digital⁴ (RUA, 2014). O volume testicular de cada testículo foi calculado utilizando a seguinte fórmula: Volume Testicular (cm³) = 0,5233 x L x C x A; onde, L: Largura; C – comprimento; A – Altura. O volume testicular total (VTT) foi calculado somando o volume do testículo esquerdo (VTE) e direito (VTD) (CHENIER, 2007).

2.4) Coleta e avaliação seminal

Antes de iniciar as avaliações seminais, os garanhões que não estavam em regime de coleta, foram esgotados em 03 colheitas, por 03 dias, respeitando-se um intervalo de 48 horas. As coletas do sêmen foram realizadas utilizando vagina artificial (modelo Botucatu®⁵) previamente preenchida com água aquecida (temperatura em torno de 45° C). O sêmen era coletado em saco plástico que revestia internamente o copo coletor, sendo este protegido da luz e oscilações de temperatura. Antes do início de cada coleta, os animais tiveram o pênis higienizado com água em temperatura ambiente. As coletas ocorreram usando manequim ou égua em estro natural ou induzida com Cipionato de estradiol⁶ (5 mL/ IM).

Imediatamente após a coleta, os ejaculados eram avaliados de forma manual e os parâmetros macroscópicos e microscópicos de volume, concentração, vigor, motilidade, defeitos maiores (gota proximal cauda fortemente dobrada e cauda fortemente enrolada) defeitos menores (gota citoplasmática distal, cauda enrolada e cauda dobrada) e defeitos totais (soma dos defeitos maiores e menores) eram tabulados. A concentração espermática foi realizada pelo método de câmara de Neubauer diluindo o sêmen em água destilada (taxa de diluição 1:20). A morfologia espermática foi feita através de lâminas com esfregaço de sêmen coradas com panótico e 200 espermatozoides foram avaliados por microscopia óptica (Olympus CX31®⁷) em aumento de 1000x (CBRA, 2013).

2.5) Exame ultrassonográfico pelo modo Doppler

Os exames ultrassonográficos foram realizados por um único operador experiente, com os animais mantidos em estação no tronco de contenção. A região do testículo e cordão espermático foram avaliadas com ultrassom portátil (Z6 VetMindray®⁸), equipado com modo-B (escala de cinza) e power Doppler com transdutor linear multifrequencial de banda larga e frequência de 5,0 MHz. O Doppler pulsátil avaliou a velocidade do fluxo sanguíneo vascular com utilização do ângulo Doppler de 60°. A velocidade do pico sistólico (VPS-cm/s), velocidade diastólica final, (VDF-cm/s) e índice de resistividade (IR) do segmento supratesticular das artérias testiculares do lado esquerdo e direito foram avaliados (POZOR, 2004).

2.6) Análise dos dados

Os dados obtidos foram analisados pelo programa Statistical Analysis System – SAS, University Edition. Foram realizadas análises preliminares testando um modelo completo que inclui os efeitos fixos incluindo período, idade e suas interações simples. Os efeitos e as interações que não foram significativas ($P > 0,05$) foram removidos do modelo de análise. O modelo de análise de variância (PROC-GLM) final incluiu os efeitos de período e suas interações e a co-variável idade dos animais. As médias foram comparadas pelo teste SNK ($P \leq 0,05$).

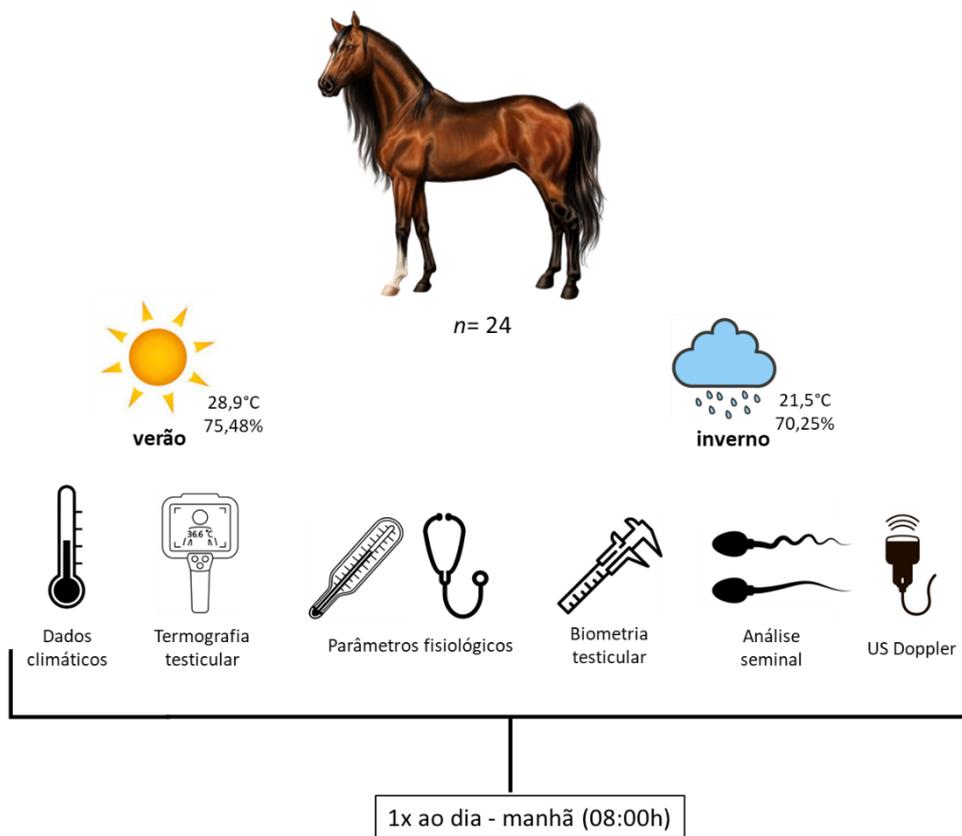


Figura 1: Esquema gráfico resumindo todas as avaliações realizadas nos animais, no verão e inverno.

3. RESULTADOS

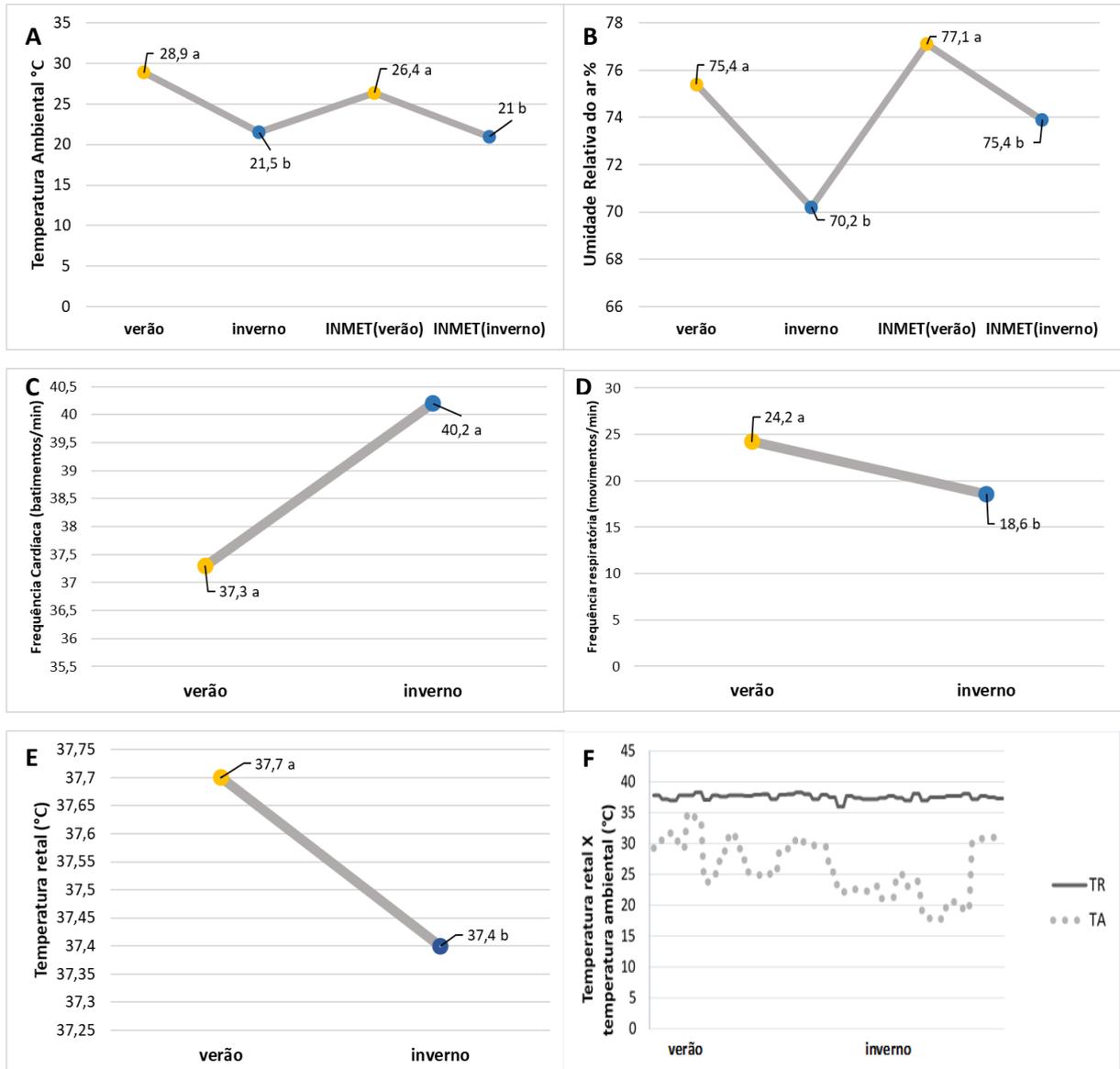
3.1) *Dados bioclimáticos e parâmetros fisiológicos*

A temperatura ambiental no verão ($28,94 \pm 3,00^\circ$) foi superior ($P < 0,05$) a do inverno ($21,58 \pm 2,21^\circ\text{C}$) (gráfico A). A umidade relativa do ar também foi superior ($P < 0,05$) no verão ($75,48 \pm 9,54\%$) quando comparada ao inverno ($70,25 \pm 9,16\%$) (gráfico B).

Não houve diferença nos valores de temperatura retal nos períodos estudados (gráfico E). Os valores de frequência cardíaca foram superiores ($P < 0,05$) no inverno ($40,23 \pm 5,95$ b.p.m) quando comparados ao verão ($37,33 \pm 5,32$ b.p.m) (gráfico C). A frequência respiratória foi superior ($P < 0,05$) no verão ($24,20 \pm 7,15$ m.p.m) em relação ao inverno ($18,62 \pm 3,69$ m.p.m) (gráfico D). Os dados de TA, UR, FC, FR e TR estão expressos nos gráficos A, B, C, D e E respectivamente. As variações na temperatura retal em relação as variações na temperatura ambiental durante o período experimental estão no gráfico F.

Os valores médios da temperatura ambiental e umidade relativa do ar, na data estudada (verão e inverno de 2022), registrados pelo Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), estão expostos nos gráficos A e B.

Figura 2: Valores médios da temperatura ambiental (A) e umidade relativa do ar (B), frequência cardíaca (C), frequência respiratória (D), temperatura retal (E), dos garanhões alojados em baia, no verão e no inverno. Relação entre a temperatura retal, temperatura ambiental (F), durante todo o período de avaliação.

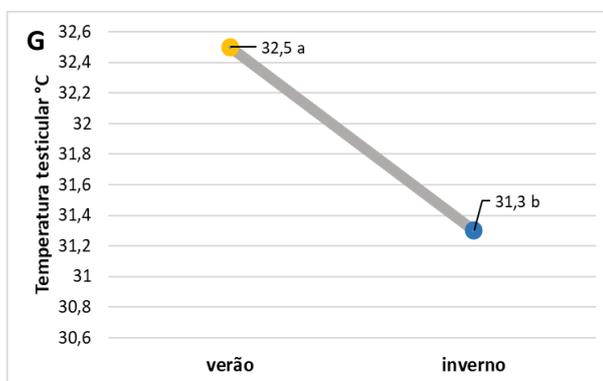


a, b, Médias seguidas por diferentes letras minúsculas diferem significativamente entre os períodos (verão e inverno), pelo teste de SNK a 5% de probabilidade

3.2) Temperatura da superfície testicular

A temperatura da superfície escrotal bilateral diferiu ($P < 0,05$) entre os meses de verão e de inverno. No verão, a média geral foi $32,56 \pm 0,04^\circ\text{C}$ e no inverno foi $31,39 \pm 0,02^\circ\text{C}$ (gráfico G). A diferença entre a temperatura corporal e a temperatura da superfície testicular no verão e inverno, (delta Δ) demonstra que houve uma diferença de temperatura de 5°C no verão e de $5,8^\circ\text{C}$ no inverno.

Figura 3: Valores médios da temperatura da superfície testicular (G), de ambos testículos, dos garanhões alojados em baia, no verão e no inverno.



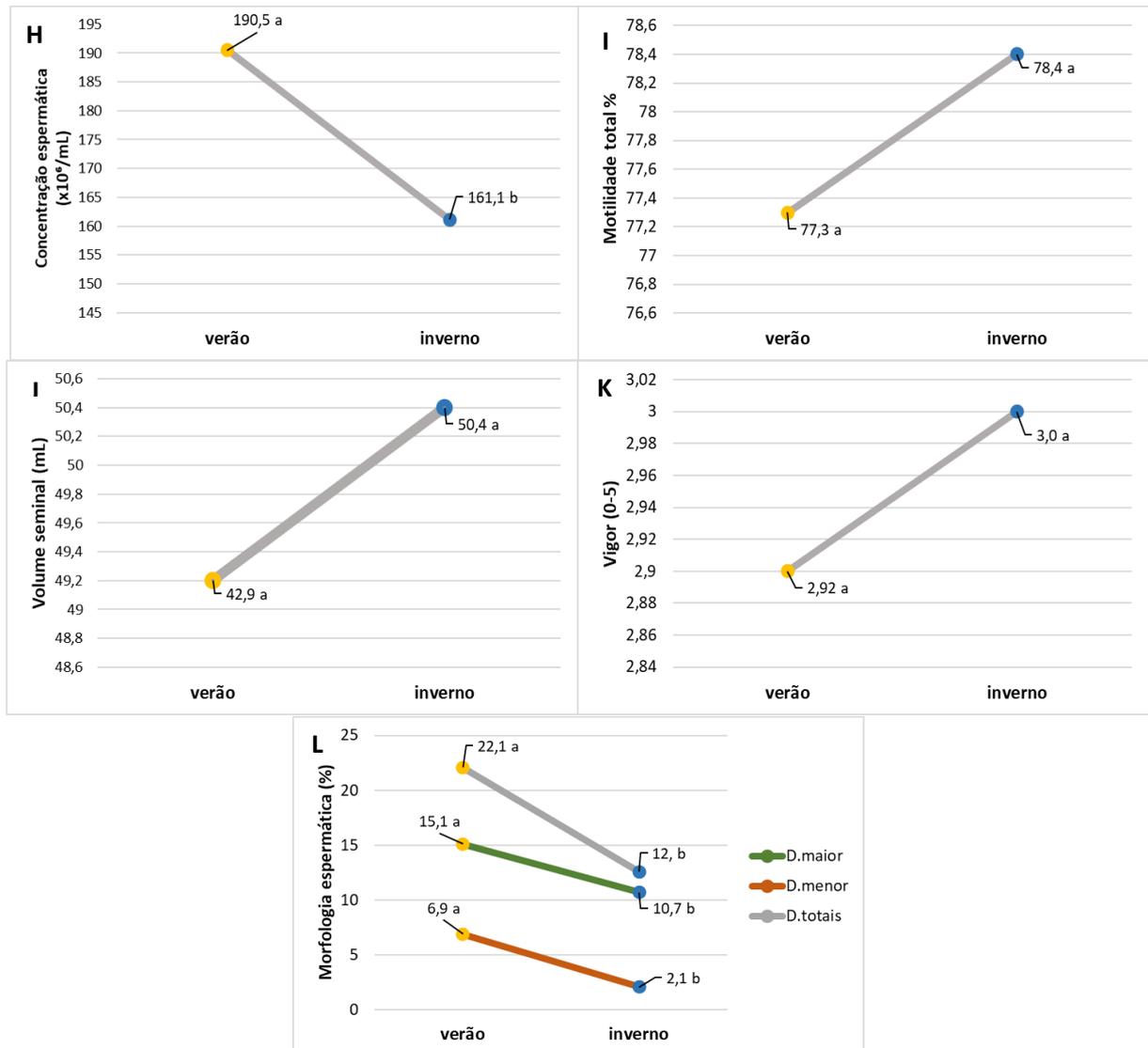
a, b Médias seguidas por diferentes letras minúsculas diferem significativamente entre os períodos (verão e inverno), pelo teste de SNK a 5% de probabilidade

3.3) Avaliação seminal

A concentração espermática foi maior ($P < 0,05$) no verão ($190,53 \pm 67,67 \times 10^6/\text{mL}$) quando comparado ao inverno ($161,16 \pm 63,19 \times 10^6/\text{mL}$) (gráfico H). A média geral da motilidade espermática total, foi $77,33 \pm 6,08\%$ no verão e $78,43 \pm 9,57$ no inverno (gráfico I). Não houve diferença no volume, motilidade e vigor entre os dois períodos avaliados ($p > 0,05$) (gráficos J, I e K). As médias do volume seminal (40-60 mL) e motilidade total ($\geq 60\%$) estiveram dentro do intervalo de valores de normalidade para a espécie equina (CBRA, 2013).

Os resultados das características físicas do sêmen dos garanhões, no verão e no inverno estão expostos nos gráficos H, I, J, K e L.

Figura 4: Valores médios da concentração espermática (H), motilidade total (I), volume seminal (J), vigor (K) e morfologia espermática (L), dos garanhões alojados em baia, no verão e no inverno.



a, b Médias seguidas por diferentes letras minúsculas diferem significativamente entre os períodos (verão e inverno), e médias seguidas por letras minúsculas iguais, não diferem significativamente entre os períodos (verão e inverno), pelo teste de SNK a 5% de probabilidade. D=defeitos

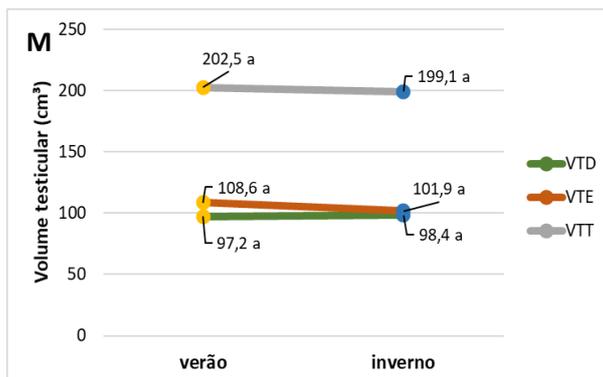
No inverno houve uma redução nos valores médios dos defeitos maiores, defeitos menores e defeitos totais ($P < 0,05$). Os valores médios das características morfológicas seminais dos garanhões, estão expostos no gráfico L.

3.4) Biometria testicular

Os resultados obtidos nesse estudo, demonstraram que no verão as variáveis LTE ($5,06\pm 1,25\text{cm}$), LTD ($4,86\pm 1,35\text{cm}$), ATE ($6,93\pm 1,34\text{cm}$) e ATD ($7,25\pm 1,60\text{cm}$) foram superiores as obtidas no inverno ($4,10\pm 0,57\text{cm}$; $4,13\pm 0,73\text{cm}$; $6,36\pm 1,55\text{cm}$ e $6,18\pm 1,79\text{cm}$ respectivamente). Não houve diferença nas médias ($p < 0,05$) do VTE ($108,67\pm 32,40 / 101,94\pm 24,21\text{cm}^3$), VTD ($97,27\pm 32,56 / 98,40\pm 38,44\text{cm}^3$) e VTT ($202,51 / 199,10\text{cm}^3$) entre os dois períodos avaliados (gráfico M).

Foi observado alta correlação entre LTE/LTD ($r=0,70$), CTE/CTD ($r=0,75$), ATD/ATE ($r=0,48$), LTD e LTE/VTT ($r=0,69$), CTD e CTD/VTT ($r=0,45$), ATD e ATE/VTT ($r=0,44$), VTD/VTE ($r=0,70$).

Figura 5: Valores médios do volume testicular direito (VTD), volume testicular esquerdo (VTE) e volume testicular total (VTT) (M), dos garanhões alojados em baia, no verão e no inverno.



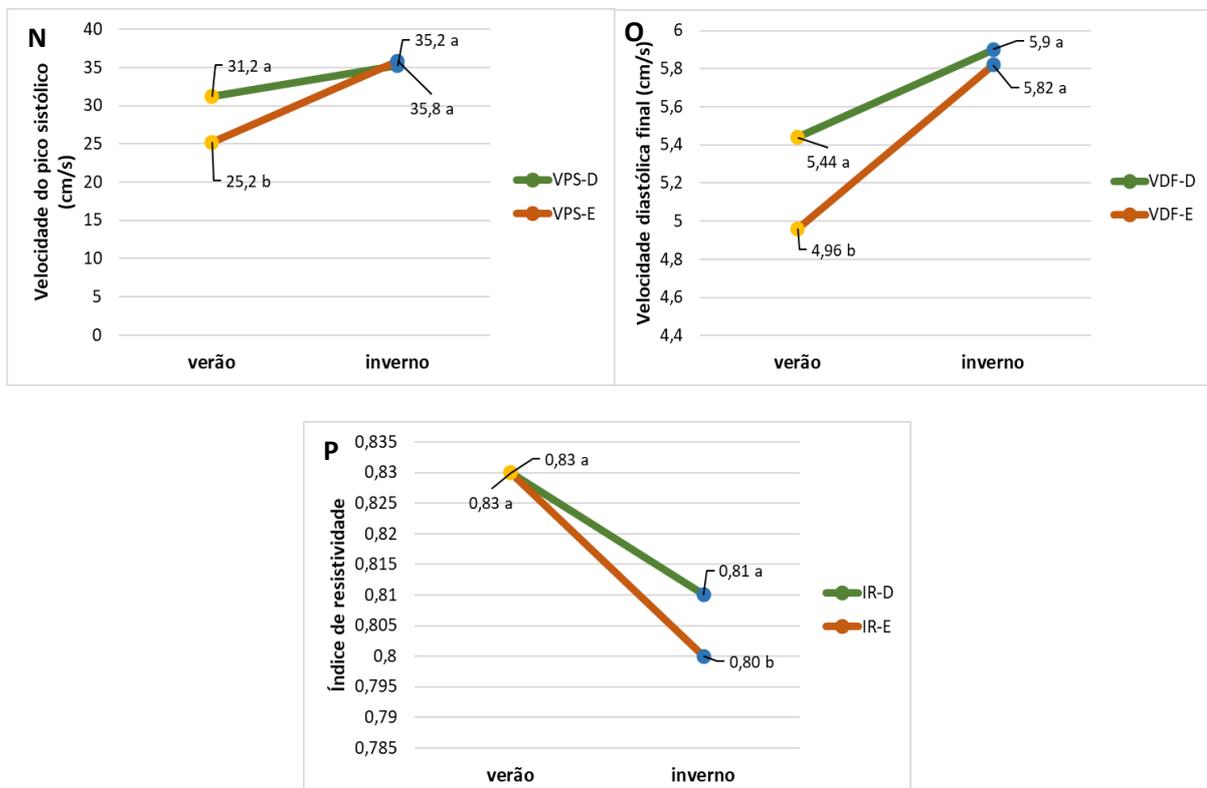
a, b Médias seguidas por letras minúsculas iguais, não diferem significativamente entre os períodos (verão e inverno), pelo teste de SNK a 5% de probabilidade.

3.5) Ultrassonografia Doppler

Houve diferença ($p < 0,05$) entre os valores médios do pico sistólico ($35,82 \pm 12,92$ e $25,27 \pm 18,69$ cm/s) (gráfico N) e velocidade diastólica final ($5,82 \pm 2,50$ e $4,96 \pm 1,79$ cm/s) (gráfico O) no testículo esquerdo, com valores maiores no inverno em relação ao verão.

Os valores encontrados para a velocidade do pico sistólico no testículo direito (VPS-D), velocidade diastólica final do testículo direito (VDF-D) e índice de resistividade do testículo direito não diferiram ($p > 0,05$) entre o verão e o inverno (gráficos N, O e P). Entretanto, o índice de resistividade do testículo esquerdo foi maior no verão ($p < 0,05$) do que no inverno (gráfico P).

Figura 6: Valores médios da velocidade de pico sistólico do testículo direito (VPS-D), e esquerdo (VPS-E) (N), velocidade diastólica final do testículo direito (VDF-D), e esquerdo (VDF-E) (O), índice de resistividade do testículo direito (IR-D) e esquerdo (IR-E) (P), dos garanhões alojados em baia, no verão e no inverno.



a, b Médias seguidas por diferentes letras minúsculas diferem significativamente entre os períodos (verão e inverno), e médias seguidas por letras minúsculas iguais, não diferem significativamente entre os períodos (verão e inverno), pelo teste de SNK a 5% de probabilidade

4. DISCUSSÃO

No presente trabalho as condições climáticas das baias as quais os animais eram mantidos foram monitoradas no verão e no inverno. No verão, como era previsto, os valores médios da temperatura ambiental e de umidade relativa do ar foram superiores aos obtidos no inverno (gráficos A e B). Verificou-se ainda que os valores médios de temperatura ambiental regional elevaram-se em três anos (gráfico A) (CLIMATE-DATA.ORG, 2019). Tal fato ocorreu devido as emissões de gases de efeito estufa e o aquecimento global. Com a continuidade e ascendência desse fenômeno, essas mudanças serão ainda mais intensificadas.

Segundo pesquisas, observa-se que o aquecimento regional é maior do que a média global podendo chegar até quatro graus acima da media global. As projeções indicam que regionalmente as temperaturas médias ficarão maiores que a média global (INPE,2022). Assim como o observado na região estudada, ao longo do tempo.

Recente estudo da Organização Meteorológica Mundial (OMM) aponta que existe 50% de chance de a elevação da temperatura média global ultrapassar 1,5°C nos próximos cinco anos. (OMM, 2022). As mudanças climáticas no mundo são uma realidade gerando o aumento da temperatura global e conseqüentemente afetando a produção animal, de alimentos e energia (SILVA, 2022).

Os componentes do ambiente térmico como altas temperaturas, umidade e radiação solar intensa, são fatores que podem causar estresse nos animais, deflagrando uma reação fisiológica compensatória do organismo (SILVA, 2005) a qual pode ser verificada por meio de alterações na temperatura retal, frequência cardíaca e frequência respiratória (PIRES & CAMPOS, 2008; MORAES, 2010).

Os animais deste estudo apresentaram aumento na frequência respiratória no verão (gráfico D) ocasionada pelas altas temperaturas nesse período (gráfico A). A taquipnéia é considerada uma defesa fisiológica do animal frente ao desconforto gerado por alterações climáticas (PALUDO et al., 2002). A perda de calor via respiração é uma forma complementar a perda de calor que ocorre via sudorese que nos equinos é o mais importante mecanismo de dissipação de calor (YOUSELF, 1985)

devido ao elevado número de glândulas sudoríparas espalhadas por todo o corpo do animal (DYCE et al., 1996). O aumento na temperatura ambiental (gráfico A) pode ter contribuído para o aumento na temperatura superficial testicular ($P < 0,05$) verificada nos garanhões no verão (gráfico G). No verão, houve uma diferença de 5°C (Δ) entre a temperatura corporal e a temperatura da superfície testicular. No inverno a diferença foi de $5,8^{\circ}\text{C}$ (Δ). Os valores de temperatura testicular encontrados são considerados normais para o adequado funcionamento do metabolismo testicular equino (RIZZOTO & KASTELIC, 2019).

Houve aumento dos defeitos espermáticos maiores, menores e totais no verão (gráfico L), em relação ao inverno, o qual foi atribuído ao aumento da temperatura ambiental (gráfico A) e da temperatura testicular no verão, em relação ao inverno (gráfico G). Porém os valores encontram-se dentro do padrão desejável para equinos, que consiste em até 30% de defeitos totais. (HENRY, 2013).

Nesse contexto, o calor ambiente é um dos principais limitantes da produção dos animais nos trópicos, visto que acontecem mudanças nas funções biológicas do animal, disfunções no metabolismo, nas reações enzimáticas e secreção de hormônios, além da energia despendida para eliminar calor corporal (SILVA, 2000; BACCARI JÚNIOR, 2001; TITTO et al., 2006). Temperatura ambiental e umidade altas, são conhecidas por causar influência negativa sobre o sucesso reprodutivo em animais domésticos em países tropicais e subtropicais (JU, 2005). O processo de estresse atua sobre o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal reduzindo sua atividade e incursões sobre o trato reprodutivo, afetando a concentração dos hormônios reprodutivos, termorregulação testicular e fertilidade (JACOB, 2019). Por isso, um ambiente inadequado interfere negativamente na expressão do potencial genético dos animais (OLIVEIRA et al., 2008).

Garanhões da raça Mangalarga Marchador criados na região de mata atlântica do sul da Bahia (MACHADO, 2021), apresentaram temperatura testicular média inferior em $3,8^{\circ}\text{C}$ quando comparada a temperatura retal, ou seja, dentro de valores considerados eficientes para a espermatogênese (RIZZOTO & KASTELIC, 2019). Entretanto houve variação no percentual de espermatozoides progressivamente móveis e morfologicamente normais. As alterações encontradas foram atribuídas as atividades físicas as quais os animais eram submetidos semanalmente, que influenciam negativamente a qualidade espermática (JANETT et al., 2006).

Estudo avaliando a influência das estações cheia e seca nas características reprodutivas e seminais (volume, concentração, motilidade e vigor) de garanhões da raça pantaneira, apontou maior porcentagem de defeitos espermáticos no sêmen coletado no verão, a estação reprodutiva (RIBAS, 2006). Outros autores obtiveram em seus estudos, maiores porcentagens de defeitos espermáticos no sêmen de garanhões no verão, comparado com outono e primavera (ROBALO SILVA et al., 2007; JANETT et al., 2006), esses achados corroboram com os resultados do nosso estudo (gráfico L).

Em outro estudo, cavalos da raça Quarto de Milha, de diferentes idades, ficaram expostos ao sol por uma hora e foram capazes de manter a temperatura testicular em média 3,4 °C abaixo da temperatura corporal. Não houve variação entre as faixas etárias estudadas (média de 34,7°C de temperatura testicular). Os achados permitiram aos autores atestarem a capacidade de termorregulação dos animais avaliados (RAMIRES-NETO, 2013). Para que os processos testiculares ocorram adequadamente os testículos, necessitam de uma faixa de temperatura de aproximadamente 3 a 5°C abaixo da temperatura corporal, condição indispensável à espermatogênese. (RIZZOTO & KASTELIC, 2019). Com isso, cavalos não adaptados ou com déficits de termorregulação testicular podem apresentar alterações na temperatura testicular e características seminais, quando expostos a condições ambientais adversas (MACHADO, 2021).

A temperatura retal dos animais nesse estudo, teve pouca variação quando correlacionada a temperatura ambiental, durante o verão e inverno (gráfico F). A temperatura corporal (retal) é resultado da quantidade de calor produzida no organismo, ou por ele absorvida, e a quantidade liberada para o ambiente (ALMEIDA, 2009). O seu aumento no animal, significa que o calor não está sendo dissipado, gerando estresse térmico (SOUZA et al., 2005). Tal fato não foi observado nos resultados desse estudo.

Neste estudo, apesar de ter sido observado um aumento na quantidade de defeitos espermáticos maiores, menores e totais, no verão (gráfico L), verificou-se maior concentração espermática no ejaculado ($190,53 \pm 67,67$), do que no inverno ($161,16 \pm 63,19$) (gráfico H). Os achados podem ter sido associados à estação reprodutiva (primavera e verão), pois neste período a concentração média de espermatozoide por ejaculado é em média, 50% superior (LOPATE et al., 2003).

Desta forma, verifica-se que apesar do aumento na temperatura ambiental (gráfico A) e da temperatura testicular (gráfico G) no verão, os valores médios da concentração espermática mantiveram-se desejáveis.

Avaliando aspectos físicos (volume, concentração, motilidade e vigor) do sêmen de cavalos Mangalarga Marchador em todas estações climáticas do ano, criados na zona da mata mineira, não houve alteração na concentração espermática nas diferentes estações do ano e revelou concentração média de $191,0 \pm 110 \times 10^6/\text{mL}$ no verão pelo método manual (FREITAS, 2010). Valores similares aos encontrados no nosso estudo ($190,53 \pm 67,67 \times 10^6/\text{mL}$, gráfico H) na mesma estação do ano. Volume seminal, motilidade total e vigor não se alteraram durante o estudo (gráficos J, I e K).

Nesse estudo não foi observada diferença do volume seminal no verão ($49,25 \pm 10,77 \text{ mL}$) em relação ao inverno ($50,42 \pm 10,90 \text{ mL}$) (gráfico J). O volume seminal é aproximadamente 40% maior durante a estação reprodutiva do que fora da estação reprodutiva (LOPATE, 2003). O volume seminal é bastante distinto entre diversos estudos. A raça, condição nutricional e o clima podem interferir nessa variável. Diante disso, entende-se que essa característica é variável, havendo registros distintos entre diferentes autores, recomendando mais estudos em diferentes raças e climas.

Nesse estudo a motilidade espermática total, não diferiu entre as estações do ano, indicando que a variação da temperatura ambiental não interferiu nesse parâmetro (gráfico I). A variação sazonal verificada na motilidade espermática ainda é controversa, ou seja, alguns autores revelaram uma melhor motilidade durante o verão (JANETT et al. 2006), enquanto outros não registraram diferença (ROBALO SILVA et al., 2007; WRENCH et al., 2010) ou descreveram aumentos no inverno (BLOTTNER et al., 2001).

Nesse estudo, o volume testicular total (VTT) não diferiu entre os períodos avaliados (verão: $202,51 \text{ cm}^3$ e inverno: $199,10 \text{ cm}^3$, gráfico M). Achados similares foram descritos em cavalos da raça Pantaneira avaliados na estação chuvosa (verão) e na seca (inverno) (RIBAS, 2006). O volume testicular é uma medida direta da quantidade de parênquima presente no órgão e desta forma, tais medidas permitem prever a produção aproximada de espermatozoide (ROBALO SILVA, 2007). Entretanto, a integridade do parênquima testicular, a vascularização e a temperatura testicular

também devem ser avaliadas para descartar ou não, alterações que interfiram na fertilização.

Houve diferença ($P < 0,05$) no valor do índice de resistividade (IR) da artéria testicular esquerda no verão ($0,83 \pm 0,05$), em relação ao inverno ($0,80 \pm 0,08$) (gráfico P). A diferença observada sugere possível alteração hemodinâmica do testículo ipsilateral.

O maior valor de IR nos testículos esquerdos pode estar relacionado ao fato destes testículos se desenvolverem mais cedo e crescerem mais rapidamente que os testículos direitos na maioria dos garanhões (NISHIKAWA, 1959), somado à sua descida mais lenta para o escroto durante o processo de deiscência testicular nos equinos (BERGIN et al., 1970). Portanto, uma hipótese para a diferença na perfusão entre testículos, é que os testículos esquerdos estejam sujeitos a um processo degenerativo maior, pelo tempo superior de permanência na cavidade abdominal.

Avaliando o fluxo sanguíneo da artéria testicular em garanhões de diferentes idades, com torção de 180°C do cordão espermático e garanhões normais, da raça Mangalarga Marchador, Silva (2021) obteve as seguintes médias gerais nos valores de IR, VPS e VDF respectivamente: $0,79 \pm 0,07$; $22,68 \pm 4,28$ e $4,71 \pm 1,55$, dos animais normais, ficando próximo aos resultados achados no presente estudo (gráficos P, N e O respectivamente). Os animais com torção obtiveram valores de IR, VPS e VDF respectivamente: 0,73; 19,21 e 4,93, diferindo dos achados desse estudo e servindo como base de dados para avaliação e diagnóstico de cavalos com torção do cordão espermático.

O IR expressa a resistência ao fluxo sanguíneo o qual pode ser causado pelo aumento da viscosidade sanguínea, redução do diâmetro do vaso ou pela existência de vasos longos. É o índice mais sensível e mais utilizado no diagnóstico de transtornos do fluxo sanguíneo testicular em humanos e equinos (BIAGIOTTI et al., 2002) e, a modalidade Doppler espectral têm se mostrado técnica efetiva para complementar o diagnóstico de afecções reprodutivas e bons marcadores da espermatogênese (BIAGIOTTI et al., 2002; POZOR et al., 2014).

A redução no suprimento sanguíneo adequado para os testículos pode afetar a produção espermática desencadeando a infertilidade ou subfertilidade, nos animais acometidos (ORTEGA-FERRUSOLA et al., 2014). Nesse estudo, o aumento do IR no testículo esquerdo, verificado no verão, (gráfico P), pode ter sido gerado pelo aumento

da temperatura ambiental e testicular no mesmo período e sugere possível alteração hemodinâmica do testículo ipsilateral. Possivelmente, influenciou a alteração morfológica produzindo um aumento de defeitos espermáticos, encontrada no mesmo período. Entretanto, tais alterações não foram consideradas graves, ao ponto de condenar a fertilidade dos garanhões estudados.

5. CONCLUSÃO

Conclui-se que no verão, os garanhões da região Norte Fluminense (RJ) apresentam estresse térmico devido ao aumento da temperatura ambiental, resultando em taquipnéia como mecanismo compensatório do organismo. O aumento da temperatura ambiental e testicular no verão, acarretou um maior número de espermatozoide com defeitos maiores, menores e totais. Da mesma forma, gerou alterações de impedância artéria testicular esquerda, causada também pelo tempo maior de permanência na cavidade abdominal.

Entretanto, tais alterações encontradas no verão, não foram suficientemente capazes de condenar a fertilidade dos garanhões estudados. A concentração espermática foi maior no verão, porém os animais estavam na estação reprodutiva.

Exames como a termografia de infravermelha e a US doppler testicular podem ser incorporadas na rotina de avaliação do garanhão. Os resultados aqui apresentados, suas associações com a fertilidade do macho, assim como seu baixo grau de invasividade acrescentariam informações valiosas no estudo desta característica complexa e de interesse econômico na equideocultura.

COMITÊ DE ÉTICA

Este trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA/UENF (protocolo nº 513/2021).

FONTES DE AQUISIÇÃO

¹ FLIR E-53, Câmera termográfica avançada, MSX Flir, Termovisor Brasil, Atibaia, São Paulo, Brasil.

² FLIR Tools, Teledyne Flir, Brasil.

³ Medidor de estresse térmico WBGT Extech modelo HT30, Comercial Gonçalves Equipamentos de medição, São Paulo, SP, Brasil.

⁴ Paquímetro digital eletrônico profissional, 150mm, 6", Western- China, John Store, Mercado Livre, São Paulo, SP, Brasil.

⁵ Vagina artificial equinos, coletor de sêmen, Botupharma, Botucatu, SP, Brasil.

⁶ E.C.P Ciprionato de estradiol, 10 MI, Zoetis, São Paulo, SP, Brasil.

⁷ Microscópio binocular CX31, Olympus Optical do Brasil Ltda, São Paulo, SP, Brasil.

⁸ Ultrassom Z6 VetMindray, Mindray do Brasil Comércio e distribuição de equipamentos médicos Ltda, São Paulo, SP, Brasil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

AKAND, M. et al. Color Doppler ultrasound characteristics after subinguinal microscopic varicocelectomy. **Medical Ultrasonography**. v. 19, p.59-65, 2017.

ALMEIDA, M. C.; VIZIN, R. C. L.; BÍCEGO, K. C. Mecanismos termorreguladores em vertebrados. In: **Fisiologia térmica de vertebrados**. São Paulo: Cultura Acadêmica, cap. 4, p. 89-117, 2020.

ALTOÉ, L. e OLIVEIRA FILHO, D. Termografia infravermelha aplicada à inspeção de edifícios. **Acta Tecnológica**, v. 7, p. 55-59, 2012.

ALVARENGA, M. A.; PAPA, F. O. Principal reproductive problems observed in/ Brazilian stallions. **Brazilian Journal of Equine Medicine**, v. 14, p. 26–29, 2009.

ALVES, M.B. Recovery of normal testicular temperature after scrotal heat stress in rams assessed by infrared thermography and its effects on seminal characteristics and testosterone blood serum concentration. **Theriogenology**. v.86, p.795-805, 2016.

BACCARI JÚNIOR, F. **Manejo ambiental da vaca leiteira em climas quentes**. Universidade Estadual de Londrina (UEL), p.142, 2001.

BARROS, C. M. Q. et al. Efeitos da diminuição do fluxo sanguíneo testicular nas temperaturas escrotal superficial, escrotal subcutânea, intratesticular e intravascular em touros. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 35, p. 49-54, 2011.

BASILE, R. Guia prático de exames termográficos em equinos. **Brazilian Journal of Equine Medicine**, v.31, p.24 28, 2011.

BELAY, T.; TEETER, R. G. Broiler water balance and thermobalance during thermoneutral and high ambient temperature exposure. **Poultry Science**, Champaign, v.72, n.2, p.116-124, 1993.

BENEZRA, M. V. A new index measuring the adaptability of cattle to tropical conditions. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 13, n. 4, p. 1015, 1954.

BIAGIOTTI, G; CAVALLINI, G; MODENINI, F. et al. Spermatogenesis and spectral echo-color Doppler traces from the main testicular artery. **BJUI International**, v.90, p.903–908, 2002.

BÍCEGO, K. C.; GARGAGLIONI, L. H. **Fisiologia térmica de vertebrados**. São Paulo: Cultura Acadêmica, p. 359-363, 2020.

BICHUETTI, G. C. S. Efeito do período do dia sobre as variáveis do ambiente térmico e termofisiológicas de novilhas leiteiras mestiças nos trópicos. 2022. **Monografia** (Conclusão do curso de Medicina Veterinária)- Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Minas Gerais.

BLOM, E. Segmental aplasia of the wolffan duct in the bull. A congenital and most probably hereditary defect overlooked in the past. Scritti in onore de telesforo Banadonna. **Edagricole**, Bologna, p. 57-63, 1972.

BLOTTNER, S. et al. Morphological and functional changes of stallion spermatozoa after cryopreservation during breeding and non-breeding season. *Animal Reproduction Science*, v. 65, p. 75-88, 2001.

BRIDI, A.M. Homeotermia e regulação da temperatura corporal. **Adaptação e aclimação animal**, 2010. Disponível em: http://www.uel.br/pessoal/ambridi/Bioclimatologia_arquivos/AdaptacaoeAclimatacaoAnimal.

BRIOSCHI, M. L. A história da termografia. **Conceitos antigos da produção de calor**. 2003. Disponível em: <http://www.lla.if.sc.usp.br/art/ahistoriadatermografia.pdf>.

BUFFINGTON, D. E.; COLAZZO-AROCHO, A.; CATON, G.H. Black globe humidity comfort index (BGHI) as comfort equation for dairy cows. **Transaction of the American Society Agricultural Engineering**, v.24, n.4, p.711-714, 1981.

CARAZO et al. Ultrassonografia testicular em caprinos jovens da raça Alpina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.66(2), p.388-394, 2014.

CARRILLO, J. et al. Estudo ultrassonográfico com doppler colorido e pulsado do testículo canino. **Reproduction Domestic Animals**, v. 47, p. 655-659, 2012.

CARVALHO, CF; CHAMMAS, MC; CERRI, GG. Princípios físicos do Doppler em ultrassonografia. **Ciência Rural**, V.38, p.872-879, 2008.

CARVALHO, M. G. Influência da suplementação com óleo de avocado (*persea americana Mill*) na temperatura superficial corpórea de equinos submetidos a exercício em esteira. **Tese** (Doutorado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade Estadual Paulista, 2018.

CERRI, G.G et al. Avaliação dúplex do fígado, sistema portal e vasos viscerais. In **Doppler**. São Paulo: Sarvier, cap.6, p.120-121, 1998.

CHACUR, M. G. M. Termografia por infravermelho na reprodução de bubalinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.41, n.1, p.180-187, 2017.

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**, v.26, p.167-168, 2007.

CLAY, C. M.; CLAY, J. N. Endocrine and testicular changes associated with season, artificial photoperiod, and the peri-pubertal period in stallions. In: Blanchard, T. L.; Varner, D. D.; Turner, A. S. (Eds.). **Stallion management, the veterinary clinics of North America, equine practice**. Philadelphia: Saunders, p. 31-56, 1992.

CLEMENT, F. et al. Estimation du pouvoir fecondant de l'etalon. **Recueil de Médecine Vétérinaire**, v. 168, p. 947-957, 1992.

CLERMONT Y. Kinetics of spermatogenesis in mammals: seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal. **Physiological Reviews**. v. 52, p. 1198-1236, 1972.

COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL- CBRA. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. 3ed**. Belo Horizonte, p. 104, 2013.

COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL- CBRA. Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. 3ed. Belo Horizonte, p. 104, 2013.

COLLI et al. Hipertensão arterial sistêmica induz diminuição na qualidade dos espermatozoides e alterações na microcirculação testicular em ratos espontaneamente hipertensos (SHR). **Tese** (Doutorado), Universidade de São Paulo, 2019.

CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL, **Pesquisa Pecuária Municipal**, www.cnabrazil.org.br, IBGE 2021.

COSTA D. S., HENRY M., PAULA T. A. R. Espermatogênese de catetos (Tayassu tajacu). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 56, n. 1, p. 46-51, 2004.

CRUZ JÚNIOR, C. A. et al. Effects of testicle insulation on seminal traits in rams: Preliminary study. **Small Ruminant Research**, v. 130, p. 157-165, 2015.

CLIMATE. Dados climáticos para cidades mundiais. Disponível em: <https://pt.climate-data.org/>, 2019.

DYCE, K. M. et al. **Tratado de anatomia veterinária**. São Paulo: Elsevier, 2004, p. 813.

DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. G. **Tratado de Anatomia Veterinária**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 663. 1996.

EDDY, A.L., VAN HOOGMOED, L.M., SNYDER, J.R. The role of thermography in the management of equine lameness. **The Veterinary Journal**., v.162, p.172-181, 2001.

FERRAZ, H. T. et al. Morfologia testicular e qualidade seminal em touros: Revisão. **Pub Vet**, v.10, n.9, p. 715-750, 2016.

FONSECA, W. L. F. et al. Características termorreguladoras de equinos submetidos a competições de Vaquejada. **Journal of Animal Behaviour and Biometeorology**, v. 2, p. 43-46, 2014.

FREITAS, B. W. Parâmetros fisiológicos e seminais de garanhões da raça Mangalarga Marchador na região da zona da mata no decorrer das estações climáticas. **Dissertação** (Mestrado)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

FURLAN, et al. Influência da temperatura na produção de frangos de corte. In: VII **Simpósio Brasil Sul de Avicultura**. Chapecó-SC, 2006.

GARCIA, A. R. et al. Variáveis fisiológicas de búfalas leiteiras criadas sob sombreamento em sistemas silvipastoris. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n.10, p. 1409-1414, 2011.

GIBSON, A. et al. Pharmacology and thermosensitivity of the dartos muscle isolated from rat scrotum. **British Journal of Pharmacology**, v. 136, p. 1194–1200, 2002.

GINTHER O. J, MATTHEW D. UTT, Doppler ultrasound in equine reproduction: principles, techniques, and potential, **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 24, 2004.

GLÓRIA. et al. Ultrassonografia Doppler de onda de pulso de artérias testiculares e sua relação com as características do sêmen em touros saudáveis. **Journal of Animal Science**, 2018.

GUASTI. P. N., DELL'ÁQUA JUNIOR, J. A. Estratégias para melhorar a qualidade seminal em garanhões. **Anais da VI Reunião Anual da Associação Brasileira de Andrologia Animal**. São Paulo, 2022.

GUENZEL-APEL, AR, MOEHRKE, C, NAUTRUP, CP. Colour-coded and pulsed Doppler sonography of the canine testis, epididymis and prostate gland: Physiological and pathological findings. **Reproduction in Domestic Animals**, V.36, p.236-240, 2001.

HANSEN, P.J. Effects of heat stress on mammalian reproduction. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v.364, p. 3341-3350, 2009.

HÉDIA et al. Alterações mensais na dinâmica do fluxo sanguíneo testicular e sua associação com o volume testicular, perfil de hormônios esteróides plasmáticos e características do sêmen em carneiros. **Teriogenologia** v.123, p. 68-73, 2019.

HENRY, M.; ECHEVERRI, A.M.L. **Andrologia veterinária básica**. Belo Horizonte: CAED – UFMG, p. 194, 2013.

INMET. Instituto Nacional de Meteorologia. Ministério da Agricultura e Pecuária Brasília, DF. Acesso em: <https://portal.inmet.gov.br>.

INPE. Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. Ministério da Ciência, Tecnologia e Informação. Brasília, DF. Acesso em: <https://www.gov.br/inpe/pt-br>). 2022.

JACOB, J. C. F. et al. Estresse térmico na reprodução equina. Anais do XXIII Congresso Brasileiro de Reprodução. v.43, n.2, p.216-221. 2019.

JANETT, F. et al. Seasonal changes in semen quality and freezability in the Warmblood stallion. **Theriogenology**, v.60, p. 453-461, 2006.

JOHNSON L. et al. Factors affecting spermatogenesis in the stallion. **Theriogenology**. v. 48, p. 1199-1216, 1997.

JU JC. Cellular responses of oocytes and embryos under heat stress: hints to molecular signaling. **Animal Reproduction**, v.2, n.2, p.79-90, 2005.

KASTELIC J.P, et al. Hyperthermia and not hypoxia may reduce sperm motility and morphology following testicular hyperthermia. **Veterinární Medicína**, v.62, p.437-42, 2017.

KASTELIC, J. P. et al. Contribution of the scrotum, testes and testicular artery to scrotal/ testicular thermoregulation in bulls at two ambient temperatures. **Animal Reproduction Science**, v. 45, p. 255–261, 1997.

KASTELIC, J. P. Male involvement in fertility and factors affecting semen quality in bulls. **Animal Frontiers - Feature Articles**. v. 3, p. 20-25, 2014.

KLEIN, B. G. Termorregulação. In: **Cunningham Tratado de fisiologia veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014. cap. 53, p. 1420-1447.

KNÍZKOVÁ, I. et al. Applications of infrared thermography in animal production. **Journal of the Faculty of Agriculture**, Kyushu, v. 22, n. 3, p. 329-336, 2007.

KUTZLER, M.; TYSON, R.; GRIMES, M.; TIMM, K. Determination of testicular blood flow in camelids using vascular casting and color pulsed-wave Doppler ultrasonography. **Veterinary Medicine International**, New York, p. 17, 2011.

LLOYD-JONES, J. L. et al. Use of thermography for functional evaluation of stallion scrotum and testes. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 35, p. 488-494, 2015.

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.

MACHADO, W. M., et al. Scrotal thermographic profile and seminal characteristics of Mangalarga Marchador stallions bred in the Atlantic Rainforest biome. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.73, n.4, p.763-770, 2021.

MALSCHITZKY, E. **Estresse e bem estar em equinos**. Disponível em: <http://cabanhaamarante.com.br>. Acesso em : 20 de março de 2010.

MANAF, M. Artificial Insemination in Farm Animals. **InTech**, Rijeka, Croácia, 2011.

MARTELLO, L. S. et al. Infrared thermography as a tool to evaluate body surface temperature and its relationship with feed efficiency in *Bos indicus* cattle in tropical conditions. **International Journal of Biometeorology**, v. 60, n. 1, p. 173-181, 2015.

MARTELLO, L.S; SAVASTANO JR, H; PINHEIRO, M.G; SILVA, S.L; ROMA JR., L.C. Avaliação do microclima de instalações para gado de leite com diferentes recursos de climatização. **Revista Engenharia Agrícola**. Botucatu, v. 24, p. 263-273, 2004.

MELO, S. R. Termografia em Medicina Veterinária: uma técnica de infinitas possibilidades. **Boletim Apamvet**, v.8, p.16-18, 2017.

MENEGASSI, S. R. O. et al. Scrotal infrared digital thermography as a predictor of seasonal effects on sperm traits in Braford bulls. **International Journal of Biometeorology**, v. 59, p. 357-364, 2015.

MERRITT, C. R. B. Física do Ultra-som. In: RUMACK, C. M.; WILSON, S. R.; CHARBONEAU, J. W. **Tratado de ultra-sonografia diagnóstica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2 ed, p. 3-29. 1999.

MONTANHOLI, Y. R. et al. Application of infrared thermography as an indicator of heat and methane production and its use in the study of skin temperature in response to physiological events in dairy cattle (*Bos taurus*). **Journal of Thermal Biology**, v.33, n.1, p. 468-475, 2008.

MONTEIRO, G. A. Ultrassonografia aplicada ao exame andrológico em garanhões. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.41, p.157-168, 2017.

MORAES, J.B. Termorregulação e adaptabilidade climática de caprinos no semiárido piauiense. **Dissertação** (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2010.

MOREIRA E. P. Efeitos da Insulação Escrotal sobre a Biometria Testicular e Parâmetros Seminais em Carneiros da Raça Santa Inês Criados no Estado do Ceará. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.30(6), p. 1704-1711, 2001.

NEVES E. S., CHIARINI-GARCIA H., FRANÇA L. R. Comparative Testis Morphometry and Seminiferous Epithelium Cycle Length in Donkeys and Mules. **Biology of Reproduction**. v. 67, p. 247–255, 2002.

NICHI, M. et al. Seasonal variation in semen quality in Bos indicus and Bos Taurus bulls raised under tropical conditions. **Theriogenology**, v. 66, p. 822-828, 2006.

NOORDHUIZEN-STASSEN, et al. Anastomoses arteriovenosas funcionais entre a artéria testicular e o plexo pampiniforme no cordão espermático de carneiros. **Journal of Reproduction and fertility**, v.75, p. 193-201, 1985.

NOVELLAS, R.; ESPADA, Y.; GOPEGUI, R. R. Doppler ultrasonographic estimation of renal and ocular resistive and pulsability indices in normal dogs and cats. **Veterinary, Radiology & Ultrasound**, Raleigh, v. 48, n. 1, p. 69-73, 2007.

NTEMKA, et al. Efeitos das alterações da hemodinâmica e ecogenicidade testiculares nas características do sêmen ovino. **Reproduction of Domestic Animals**, v.53, p. 50-55, 2018.

OLIVEIRA, L. A. et al. Estudo de respostas fisiológicas de equinos sem raça definida e da raça Quarto de Milha às condições climáticas de Teresina, PI. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, p.827-838, 2008.

OLIVEIRA, R. A.; SILVA, A. P. B. William Herschel, os raios invisíveis e as primeiras ideias sobre radiação infravermelha. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 36, n.4, p. 4603-4613, 2014.

OLIVEIRA, S.E.O. et al. Short-wave solar radiation level willingly tolerated by lactating Holstein cows in an equatorial semi-arid environment. **Tropical animal health and production**, v. 46, p. 1413-1417, 2014.

OMM. Organização Meteorológica Mundial. Congresso Meteorológico Mundial. Genebra, Suíça. Acesso em: <https://public.wmo.int/en/about-us>. 2022.

ORTEGA-FERRUSOLA, C. et al. Use of Colour and Spectral Doppler Ultrasonography in Stallion Andrology. **Reproduction of Domestic Animals**, v. 49, n.4, p. 88–96, 2014.

ORTIZ-RODRIGUEZ, J. et al. Ultrassom Doppler de pulso como ferramenta para o diagnóstico de disfunção testicular crônica em garanhões. **Plos One**, 2017.

PALUDO, G. R. et al. Efeito do estresse térmico e do exercício sobre parâmetros fisiológicos de cavalos do exército brasileiro. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, p. 1130-1142, 2002.

PINGGERA, G.M. et al. Assessment of the intratesticular resistive index by colour Doppler ultrasonography measurements as a predictor of spermatogenesis. **BJUI International**, v.101, p.722–726, 2008.

PIRES, M.F.A.; CAMPOS, A.T. **Conforto Animal para maior produção de leite**. Viçosa, Minas Gerais, 2008.

POZOR, M. A. Evaluation of Testicular Vasculature in Stallions. **Clinical Techniques in Equine Practice**, v.6, p.271-277, 2007.

POZOR, M.A. et al. Doppler indices of vascular impedance as indicators of testicular dysfunction in stallions. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.34, Issue 1, p. 38 – 39, 2014.

POZOR, M.A.; MCDONNEL, S.M. Doppler ultrasound measures of testicular blood flow in stallions. **Theriogenology**, v. 58, n. 2, p. 437 – 440, 2002.

POZOR, MA; MCDONNELL, SM. Color Doppler ultrasound evaluation of testicular blood flow in stallions. *Theriogenology.*, V.61, p.799–810, 2004.

RAMIRES C.N. et al. The relationships between scrotal surface temperature, age and sperm quality in stallions, **Livestock Science**, v. 157, p. 358-363, 2013.

REECE, W. O. Temperatura Corporal e sua Regulação. In: Dukes **Fisiologia dos animais domésticos**. 13. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. cap. 13, p. 346-359.

RHOADES, R. A.; TANNER, G. A. **Fisiologia médica**. 2. ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, p. 754, 2005.

RIBAS, J. A. S. et al. Variação sazonal das proteínas do plasma seminal de cavalos pantaneiros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, Cuiabá, **Anais eletronicos...**Cuiabá: Somatovet, 2006.

RICCI, G.D.; SILVA-MIRANDA,K.O.; TITTO, C. G. Infrared thermography as a non invasive method for the evaluation of heat stress in pigs kept in pens free of cages in the maternity. **Computers and Eletronics in Agriculture**, v. 157, n.1, p. 403-409, 2019.

RIZZOTO G.; KASTELIC J.P. Hyperthermia is more important than hypoxia as a cause of disrupted spermatogenesis and abnormal sperm. **Theriogenology**, v.131, p.177–81, 2019.

RIZZOTO, G. Atualização sobre o estresse térmico testicular. **Anais da VI Reunião Anual da Associação Brasileira de Andrologia Animal Campinas**, SP, 2022.

ROBALO SILVA, J. et al. 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.

ROBERTO, J.V.B.; SOUZA, B.B. Utilização da termografia de infravermelho na medicina veterinária e na produção animal. **Journal of Animal Behaviour and Biometeorology**, v. 2, p. 73-84, 2014.

RODRIGUES, A. V. S. Avaliação não invasiva do estresse térmico de bovinos: uma abordagem baseada em aprendizado de máquina e termografia infravermelho. **Dissertação** (Mestrado) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de alimentos, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

ROSSI, E.S. et al. A influência do estresse térmico na resistência do semên ovino (*Ovis Aries*) refrigerado a 4°C. **Jornada de Pós-graduação JOIA**, Unesp, 2021.

RUA, M. A. S. Biometria testicular, avaliação do sêmen e do comportamento sexual de garanhões do Norte do Estado do Rio de Janeiro. **Dissertação** (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense, 2014.

RUEDIGER, F. R. et al. Digital infrared thermography of the scrotum, semen quality, serum testosterone levels in Nelore bulls (*Bos taurus indicus*) and their correlation with climatic factors. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, p. 221-232, 2016.

SALVADOR, D. F. et al. Associação entre o perfil andrológico e a congelação de sêmen de touros da raça Nelore aos dois anos de idade, pré-selecionados pela classificação andrológica por pontos (CAP). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, p.587-593, 2008.

SAMIR, H. et al. A administração de melatonina melhora o fluxo sanguíneo testicular, os hormônios circulantes e a qualidade do sêmen em cabras Shiba. **Teriogenologia**, v. 146, p.111-119, 2020.

SANCLER DA SILVA, Y. F. R. Atualidades na abordagem da degeneração testicular em garanhões. **Anais do XXIV Congresso Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA-2021) e VIII International Symposium on Animal Biology of Reproduction-Joint Meeting**, Belo Horizonte, MG, 2021.

SANTOS, J. R. S. et al. Respostas fisiológicas e gradientes térmicos de ovinos das raças Santa Inês, Morada Nova e de seus cruzamentos com a raça Dorper às condições do semi-árido nordestino. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 5, p. 995-1001, 2006.

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

SIGEL, B. A brief history of Doppler ultrasound in the diagnosis of peripheral vascular disease. **Ultrasound in Medicine e Biology**, Oxford, v. 24, n. 2, p. 169- 176, 1998.

SILVA, A. M. Mudanças climáticas, bem-estar animal e o future da produção de leite. Caderno Rural. Universidade do Estado de Santa Catarina. ed. 270., ano 14., 2022.

SILVA, D. F. Avaliação hemodinâmica da artéria testicular de garanhões normais e com torção do cordão espermático. **Dissertação** (Mestrado) – Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 2021.

SILVA, E.C.L. et al. Efeitos da disponibilidade de sombra sobre o desempenho, atividades comportamentais e parâmetros fisiológicos de vacas da raça Pitangueiras. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.31, p.295-302, 2009.

SILVA, J.C.P.M. Bem-estar do Gado Leiteiro: **A importância do conforto térmico para o alto desempenho do gado**. Editora Aprenda Fácil, 2012.

SILVA, R.G. Introdução à bioclimatologia animal. São Paulo: Nobel, 286p, 2000.

SILVA. et al. Análise quantitativa da ecogenicidade testicular pela técnica do histograma de ovinos da baixada ocidental maranhense. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.35(3), p. 297-303, 2015.

SOUZA, C. D. et al. Temperatura por infravermelho do escroto e quadro seminal em touros adultos jovens e adultos maduros da raça nelore. **Colloquium Agrariae**, v. 13, p. 66-70, 2017.

SOUZA, M. et al. Avaliação doppler triplex dos testículos em cães de diferentes portes. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.34, p. 1135-1140, 2014.

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

TAKAHASHI, L. S. et al. **Bioclimatologia zootécnica**, Jaboticabal. p.91, 2009.

TANIGUTI, T.; BIRCK, A. Descenso testicular: revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 24, p. 1-15, 2015.

TEIXEIRA. et al. Avaliação ultrassonografia da ecogenicidade do parênquima testicular como exame complementar no andrológico de carneiros. **Nucleus Animalium**, v. 3(1), p.31-36, 2011.

THOM, E. C. The discomfort index. **Weatherwise**, v.12, p.57-59, 1959.

TITTO, C. et al. Tolerância ao calor em bovinos de corte de raças europeias, utilizadas em cruzamento industrial no Brasil. In: Congresso Brasileiro de Biometeorologia, 4, Ribeirão Preto, São Paulo. Anais... Ribeirão Preto: SBBiomet, 2006.

TRAUTWEIN, L. et al. Correlação da Doppler velocimetria da artéria testicular com a cinética e características morfológicas do espermatozoide do epidídimo em cães. **Reproduction of Domestic Animals**, v.55, p. 720-725, 2020.

VARNER D. D., JOHNSON L. From a Sperm's Eye View - revisiting our perception of this intriguing cell. In: **Proceedings of the American Association of Equine Practitioners**, v.53, p. 104-177, 2007.

VARNER, D.D. et al. **Manual of Equine Reproduction**, Mosby Elsevier, USA, 2011.

VARNER, et al. Stallion management. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 8, p. 205-218, 1992.

VERMILLON, R.P. Basic physical principles. In: SNIDER, A.R. et al. **Echocardiography in pediatric heart disease**. 2.ed. Missouri: Mosby, cap.1, p.1-10, 1997.

WAITES G.M.H & SETCHELL B.P. Effect of local heating on blood flow and metabolism in the testis of the conscious ram. **Reproduction**, v.8, p.339-49, 1964.

WRENCH, N. et al. Effect of season on fresh and cryopreserved stallion semen. **Animal Reproduction Science**, v. 119, n. 3, p. 219-227, 2010.

YATOO, M. I. et al. Seasonal changes in certain blood antioxidants in cattle and buffaloes. **Indian Journal of Animal Sciences**, v. 84, p. 173-176, 2014.

