

Colheita e análise de sêmen equino da raça crioula na região da campanha

DA SILVA, Aryadne Domingues¹

DE SOUSA, Victória Jaline Dutra¹

DUTRA, Otavio de Souza¹

SIMÕES, Nathalia Pagalday^{1*}

BIANCHI, Eloisa²

OLIVEIRA, Plínio Aguiar²

SIMÕES, Michele da Rosa Scholant²

TEIXEIRA, Bruno Borges²

VAN DER LINDEN, Liana de Salles²

RESUMO: O trabalho teve como objetivo a realização de colheita e análise macroscopicamente e microscopicamente de sêmen equino, com a finalidade de analisar a qualidade seminal e possível capacidade reprodutiva dos garanhões. Para a realização do projeto foi disponibilizado dois garanhões da raça crioula para avaliação e a técnica de colheita de sêmen utilizada foi a vagina artificial fechada, com a utilização de uma égua como manequim. As análises do sêmen coletado foram efetuadas na Cabanha Santa Leodora, onde foram coletados os garanhões e na faculdade IDEAU- Bagé. Os parâmetros analisados foram: motilidade, vigor, concentração, morfologia espermática e teste de integridade de membrana. Como resultado pode-se considerar que o equino Terêncio de São Pedro e Galo Cinza, baseando-se em apenas uma única coleta, estes garanhões não se encaixariam nos padrões esperados em programas de reprodução. Porém, possivelmente utilizando-se das biotecnologias a qualidade seminal de ambos sofreriam uma melhora significativa.

Palavras-chave: biotecnologia, equídeos, colheita de sêmen, análise seminal

ABSTRACT: The objective of this work was to perform a macroscopically and microscopically harvesting and analysis of equine semen, with the purpose of analyzing the seminal quality and possible reproductive capacity of the stallions. For the realization of the project was made available two stallions of the creole breed and the semen collection technique used was the closed artificial vagina, with the use of a mare as a dummy. The analyzes of the semen collected were carried out at Cabanha Santa Leodora, where the stallions were collected and the rest in the IDEAU- Bagé university. Parameters analyzed were: motility, vigor, concentration, sperm morphology and membrane integrity test.

. As a result, one can also considered that equine Terêncio de São Pedro and Galo Cinza based on only a single collected of both stallions would not fit the expected patterns in breeding programs. However, using biotechnology, the seminal quality of both stallions would probably have a significant improvement.

Keywords: biotechnology, equines, semen collection, seminal analyzes

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior criador de cavalos do mundo, a maior população desses animais encontra-se na região Sudeste, logo em seguida aparecem nas regiões Nordeste, Centro-Oeste, Sul e Norte. A equideocultura no país gera milhões de empregos, movimentando bilhões por ano com essa produção, confirmando assim a importância da criação de cavalos que torna o Brasil uma importante cadeia do agronegócio, com forte interação com setores ligados ao lazer, cultura e turismo.

A criação de equinos destinados a seção esportiva sofreu um aumento nas últimas décadas, no qual o plantel cresceu rapidamente sem que existisse número apropriado e proporcional de bons garanhões a disposição nas temporadas reprodutivas. Esse acontecimento associado as vantagens econômicas e sanitárias, vem possibilitando crescente aceitação no uso de diferentes biotecnias ligadas à reprodução.

Um dos fatores indispensáveis na cadeia da produção animal é o reprodutor, este deve possuir eficiente potencial de fertilidade *in vitro* e *in vivo*, que varia de indivíduo para indivíduo em função da qualidade do sêmen. Os espermatozóides são produzidos de forma continua

Sendo em média uma produção de 16 milhões de células espermáticas por grama de tecido testicular por dia no garanhão, contudo muitos destes espermatozóides produzidos são defeituosos e são eliminados através de apoptose e fagocitose pelas células de Sertoli, e outros sendo eliminadas no ejaculado. Para um garanhão ser considerado aceitável deverá ser livre de defeitos hereditários; desordens comportamentais ou doenças sexualmente transmissíveis; não possuir limitações físicas que interfiram na realização da monta e possuir sêmen de qualidade. Deverá no mínimo apresentar $1,1 \times 10^9$ espermatozoides (sptz) vivos e morfolologicamente normais no ejaculado para ser considerado uma fertilidade apropriada.

A biotecnologia da reprodução compreende as técnicas utilizadas como ferramentas para aumentar a eficiência reprodutiva dos animais. Na espécie equina, os animais são avaliados pelo seu desempenho e as biotecnias da reprodução são utilizadas com uma visão mais próxima da espécie humana, em que tratamos de determinados problemas específicos de infertilidade com o objetivo de segregação da genética de seus indivíduos pelo que ele possa vir a produzir.

O presente trabalho teve como objetivo a realização de colheita e análise macroscopicamente e microscopicamente de sêmen equino, com a finalidade de analisar a qualidade seminal e possível capacidade reprodutiva dos garanhões.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

O sistema reprodutivo é incomum. Os demais sistemas do organismo visam a sobrevivência do animal que os abriga, contudo, o sistema reprodutivo propor-se a sobrevivência da espécie. O sistema reprodutivo interage com outros sistemas do organismo, mas as estruturas exclusivamente reprodutoras não são essenciais para a vida do animal (COLVILLE & BASSERT, 2010).

O sistema reprodutivo do macho é composto por testículos, escroto, epidídimo, glândulas acessórias, canal deferente, uretra, pênis, prepúcio. Onde os espermatozoides são produzidos nos túbulos seminíferos dos testículos e então transportados através dos testículos para o epidídimo, onde são armazenados e maturados. A produção de espermatozoides é um processo contínuo, uma vez iniciada. Entretanto, pode-se alterar em

velocidade, durante períodos em algumas espécies, dependo da quantidade de luz do dia (fotoperíodo) (REECE, 2015).

A estação reprodutiva para equinos tem início na primavera, período do ano no qual a luz está se tornando mais forte e o número de horas diárias de luz é mais alta e continua ao longo do verão (BROOM & FRASER, 2010).

Independente da técnica utilizada, o sêmen deve ser colhido, avaliado e processado. Quanto às técnicas de colheita de sêmen, a mais utilizada é a da vagina artificial (VA) fechada, podendo ser modificada, utilizando-se a técnica de VA aberta, da qual a principal finalidade é a colheita de sêmen fracionada, sendo apenas indicada em situações especiais (CARVALHO, 1992).

O sêmen pode ser satisfatoriamente coletado em garanhões com 24 meses de idade, com o número de espermatozoides por ejaculado variando entre sete e quinze bilhões, volume de 60 a 100 ml, podendo estar sujeito a sofrer variações estacionais. Para verificar a qualidade e a quantidade do sêmen coletado, deve ser realizado exames andrológicos (AX et al., 2004).

As características do sêmen podem ser influenciadas pelo grau de estimulação sexual, frequência de ejaculação, idade, tamanho testicular e técnica de coleta (HAFEZ & HAFEZ, 2003).

A técnica mais utilizada e correta é a utilização de um manequim para realizar a colheita onde o garanhão irá subir no manequim em vez de subir na égua, sendo uma técnica mais segura para o garanhão, para a égua e para o médico veterinário, entretanto nem todas as propriedades possuem esse manequim para que possa realizar a colheita de sêmen, então temos que ser os mais cautelosos na colheita, visando o bem-estar dos animais (BOCHIO, 2006).

2.1 VAGINA ARTIFICIAL

A coleta pode ser realizada em manequim ou utilizando uma égua no cio, estimulando o garanhão a ejacular, a vagina artificial deve simular condições anatômicas semelhantes as mesmas do interior da vagina da égua (MARTINS, 2011). A mucosa interna da vagina deve ser

preenchida com água morna aproximada a 45°C e completada com ar afim de atingir pressão suficiente para causar atrito e estimular o macho (BERBER, 2008).

Existem diversos tipos de vaginas artificiais fechadas como: Colorado, Botucatu, Hanover, Nishikawa ou Japonesa, Missouri, entre outros, sendo que as mais utilizadas em todo o território nacional é o modelo alemão (Hanover), seguido pelo modelo brasileiro Botucatu (SAMPER, 2007).

A vagina artificial viabiliza a racionalização do uso de garanhões na estação de monta; facilita o controle de doenças sexualmente transmissíveis; assim como, proporciona um maior aproveitamento de animais de grande valor econômico e zootécnico (TERRACIANO, 2008).

O processo de coleta inicia-se com a preparação da vagina artificial, passando pela excitação e limpeza do pênis, seguida da monta, terminando com a ejaculação. Após a coleta o sêmen deve ser transportado ao laboratório para a avaliação e posterior processamento (AX et al., 2004), podendo ser utilizado fresco, diluído e resfriado, ou congelado que sugere maior flexibilidade de manejo.

2.2 AVALIAÇÃO SEMINAL:

A avaliação seminal tem como objetivo conhecer o número de células estrutural e funcionalmente normais, o que está relacionado com a capacidade de fecundação do sêmen (HAFEZ & HAFEZ, 2003), bem como avaliar com uma maior acurácia se o sêmen de um garanhão é capaz de ser submetido a procedimentos como a refrigeração e ao congelamento (MAGISTRINI, 2000).

As avaliações laboratoriais básicas para estimar o potencial de fertilidade do sêmen e que seguem os padrões mínimos exigidos pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA) para avaliação do sêmen, *in natura* ou crio preservado, são: motilidade espermática (%); vigor (1-5); concentração espermática (milhões/ml); anormalidades espermáticas (%) e teste de integridade de membrana plasmática e acrossomal (ARRUDA et al., 1992).

Segundo o CBRA (1998) a motilidade é expressa em porcentagem (0 a 100%) a proporção de espermatozoides móveis, através de avaliações subjetivas de uma gota de 20µl de sêmen em microscopia ótica ou métodos mais precisos como avaliação computadorizada. O vigor caracteriza a força do movimento e consequente a velocidade com que os espermatozoides se movimentam, sendo classificado de 0 a 5, onde zero é a ausência de movimento progressivo, exclusivamente oscilatório e cinco resulta em movimento retilíneo progressivo e muito rápido. A concentração representa o número de espermatozoides por cm³ ou ml, onde o procedimento mais comum é pela contagem das células na câmara de Neubauer, porém existem formas mais exatas como pela espectrofotometria ou métodos computadorizados.

2.3 MOTILIDADE

A análise da motilidade e morfologia espermática têm sido apontadas por muitos autores como importante ferramenta na seleção de um ejaculado, sendo a determinação da porcentagem de espermatozoides móveis, o teste mais utilizado para prever a qualidade seminal (VERSTEGEN et al., 2002)

Um dos principais métodos de avaliação de espermatozoides preservados, é a motilidade espermática, esta constitui um elemento importante na estimativa da viabilidade espermática (KENNEY et al, 1983; VARNER et al, 1988; PICKETT, 1993).

A avaliação da motilidade espermática compreende na determinação da porcentagem de espermatozoides totais com movimento em um ejaculado. Para se adquirir uma avaliação mais precisa, pode-se avaliar apenas a porcentagem de espermatozoides com motilidade progressiva, já que a estes é atribuída alta fertilidade (PICKETT & VOSS, 1972).

A motilidade total para a maior parte dos ganhões varia de 40 a 80%, de 35 a 75% para a motilidade progressiva e vigor médio de três. Durante a avaliação de motilidade e vigor,

amostras devem ser removidas para avaliação da concentração e morfologia espermática. A concentração espermática varia de 50 a 400 milhões de espermatozoides por ml de ejaculado para a maioria dos garanhões (SILVA FILHO, 1994).

A motilidade progressiva é a percentagem de células que estão se movimentando ativamente para frente. Compreende-se, também, os espermatozoides com movimentos circulares amplos, devido à alta ocorrência de implantação abaxial do colo (BIELANSKI & KACZMARSKI, 1979).

O espermatozoide equino apresenta diversas características espécie específicas como cabeça assimétrica, inserção abaxial da cauda e acrossoma de pequeno volume. O movimento circular aberto, por exemplo, pode ser encontrado em espermatozóides normais pela alta incidência de inserção abaxial da cauda do espermatozoide em equinos (Kenney et al 1983), desta maneira, a avaliação da motilidade não deve levar em consideração apenas a motilidade progressiva, pois pode estar sub-estimando a boa motilidade do sêmen de alguns garanhões (Katila, 2001).

2.4 CONCENTRAÇÃO

A correta avaliação da concentração dos ejaculados retrata um importante parâmetro pois o número total de espermatozoides está diretamente associado com a concentração espermática e com o volume (RIGBY et al. 2001).

2.5 MORFOLOGIA ESPERMÁTICA

A estrutura da célula espermática pode ser avaliada por vários métodos, desde a microscopia óptica com a utilização de corantes, microscopia de contraste de fase, microscopia de contraste de interferência diferencial até a utilização de sondas fluorescentes (SALVADOR et al, 2001).

A morfologia espermática é a técnica que identifica a quantidade de espermatozoides morfolologicamente normais, sendo desejáveis valores acima de 70% em um ejaculado normal (CBRA, 1998).

As anormalidades morfológicas são classificadas de diversas formas, sendo que algumas classificações dividem as alterações de acordo com a região da célula onde a mesma ocorreu como cabeça, peça intermediária ou cauda. Outras simplesmente dividem os defeitos em primários ou secundários, ou defeitos maiores ou menores (HOWARD; PACE, 1998).

A classificação das anormalidades espermáticas em defeitos maiores ou menores foi proposta por Bloom (1973), classificando as patologias espermáticas em dois grupos: defeitos maiores (relacionados com a espermatogênese) e defeitos menores. Essa classificação foi realizada levando em consideração a maior ou menor importância da anormalidade para a fertilidade (BARTH; OKO, 1989).

A avaliação isolada da morfologia espermática pode não ser um indicativo do potencial de fertilidade de um ejaculado, mas pode indicar se o potencial de fertilidade é baixo, principalmente quando houver altas porcentagens de anormalidades espermáticas de primeiro e segundo grau (DOTT, 1975).

2.6 TESTE HIPOSMÓTICO

A avaliação da integridade funcional da membrana plasmática do espermatozoide, a partir do teste hiposmótico, o teste é considerado como um indicador de fertilidade por ser um requisito básico para a fertilização (MELO, 1999).

O teste é realizado com o intuito de observar a reação do espermatozoide, que possui uma membrana celular íntegra, quando colocado em solução hiposmótica, permitindo a passagem da água através da membrana, até o restabelecimento do equilíbrio osmótico entre fluidos extra e intracelulares (JEYENDRAN et al, 1984; SANTOS et al, 2001).

Segundo Jeyendran et al, (1981) é possível relacionar o enrolamento da cauda com uma boa funcionalidade da cabeça, havendo uma correlação positiva entre caudas enroladas e penetração de oócitos.

Com a passagem da água para o interior da célula, há um aumento do volume celular (edema), ocasionando assim o dobramento da cauda do espermatozoide (JEYENDRAN et al, 1984).

2.7 SISTEMAS AUTOMÁTICOS PARA ANÁLISE COMPUTADORIZADA DE SÊMEN – CASA

Sistemas automáticos para análise computadorizada de sêmen (CASA) vêm sendo desenvolvidos com o objetivo de fornecer dados acurados da motilidade de cada espermatozoide e resumo estatístico das subpopulações, reduzindo assim a subjetividade. (VERSTEGEN et al., 2002), além disso este equipamento pode ser utilizado para calcular o número de células por unidade de volume e ser modificado para capturar dados aproximados para classificação morfométrica de cada célula examinada (AMANN & KATZ, 2004).

Os diferentes instrumentos CASA têm apresentado altos níveis de precisão e confiança usando distintas metodologias de classificação que fornecem uma grande ferramenta para melhorar nosso conhecimento e habilidade para analisar espermatozoides (VERSTEGEN et al., 2002).

A avaliação computadorizada do sêmen possibilita avaliar a motilidade seminal de forma objetiva, ou seja, sem a possibilidade de erros humanos e influências “tendenciosas” por parte do examinador. Este sistema permite ainda que as velocidades dos espermatozoides sejam determinadas e alguns sistemas podem ser equipados com a capacidade de avaliar também a morfologia das células espermáticas (Graham & Mocé, 2005).

3. METODOLOGIA

A colheita de sêmen equino foi realizada no dia dezoito de agosto de dois mil e dezoito na Cabanha Santa Leodora, a qual está localizada no município de Dom Pedrito/RS, onde foi disponibilizada dois cavalos da raça Crioula: Terêncio de São Pedro de 15 anos e Galo Cinza de 3 anos.

Para realização da colheita foi utilizado a vagina artificial do modelo Botucatu que é composta de um tubo rígido, uma mucosa de látex e um copo coletor. A VA Botucatu e o copo coletor foram revestidos internamente com uma mucosa plástica descartável, após o copo foi fixado na parte posterior da vagina.

A mucosa interna da VA foi preenchida com água morna aproximadamente a 45°C, no qual foi utilizado um termômetro na parte final para verificar se a temperatura estava ideal, após foi completada com ar afim de atingir pressão suficiente para melhor estimular o macho e gel lubrificante utilizado para diminuir o atrito com o garanhão. Para a excitação do garanhão foi utilizado uma égua no cio, no qual simulou um manequim para realização da técnica.

3.1 PRIMEIRA COLHEITA DE SÊMEN: TERÊNCIO DE SÃO PEDRO

A primeira colheita realizada foi do cavalo Terêncio de São Pedro, no qual ao se aproximar da égua, a mesma que já estava corretamente estabilizada, o equino realizou a monta já demonstrando ereção, o técnico responsável pela colheita aproximou do animal, desviando o pênis para introduzir na vagina artificial.

A partir do momento que o cavalo começa a ejacular dentro da VA, e a constatação da ejaculação pode ser verificada com as seguintes características: movimento da cauda para cima e para baixo, contração dos músculos perianais, sapatear e fluxo pulsátil uretral da ejaculação. É necessário abrir torneira da VA para que seja liberado a água e o ar que havia sido colocado, para que neste momento diminua pressão dentro da vagina.

Durante o processo de coleta o equino demonstrou alguns comportamentos: vocalizou, mordeu a égua na cernelha e ocorreu o balançar da cauda para cima e para baixo, o tempo de ereção e ejaculação demorou cerca de 01 minuto e 05 segundos. Como o garanhão Terêncio de São Pedro já está acostumado e familiarizado com o manejo de colheita, foi necessário somente uma tentativa, na qual foi bem-sucedida.

Imagem da técnica de colheita em anexo 1.

3.2 SEGUNDA COLHEITA DE SÊMEN: GALO CINZA

O segundo ejaculado a ser coletado foi do garanhão Galo Cinza, no qual as técnicas se repetiram. O equino Galo Cinza nunca havia sido colocado para reprodução então esta seria sua primeira colheita. Ao aproxima-lo da égua, a mesma que já estava corretamente estabilizada. O equino à mordeu, relinchou e balançou a cola. Realizou a monta já demonstrando ereção, quando o técnico responsável pela colheita se aproximou do animal, o cavalo afastou-se da égua e não foi possível realizar a colheita do sêmen.

Na segunda tentativa de colheita o garanhão apenas mordeu a fêmea. Demonstrou ereção e realizou a monta, o técnico responsável pela colheita aproximou-se do cavalo, desviou o pênis para introduzi-lo na VA, porém o garanhão não conseguiu ejacular.

Na Terceira tentativa de colheita o garanhão aproximou-se da égua, realizou reflexo de Flehmen, lambeu a égua, balançou a cola e a mordeu. Foi realizada a monta, o pênis foi desviado e introduzido na vagina, foi verificado as contrações penianas. O ejaculado foi levado ao laboratório, onde foi possível analisar somente a presença de fluido pré ejaculatório.

Na quarta tentativa de colheita o garanhão aproximou-se da égua, demonstrou ereção, realizando a monta, a técnica aproximou-se do animal, o pênis foi desviado e introduzido na VA, após foi possível verificar a constatação da ejaculação pelo movimento da cauda para cima e para baixo, contração dos músculos perianais, sapatear e fluxo pulsátil uretral da ejaculação. A torneira da VA foi aberta liberando a água e o ar, diminuindo assim a pressão presente dentro da vagina. É importante ressaltar que o garanhão nunca foi posto em reprodução por isso a dificuldade de manejo na colheita do ejaculado.

Imagem da técnica de colheita em anexo 2

3.3 ANÁLISE MACROSCÓPICAS

Após cada colheita os ejaculados foram levados ao laboratório, onde foram filtrados com o auxílio de um Becker e um “filtro descartável”, para que as sujidades não interferissem na avaliação e fosse realizada a retirada do gel.

Onde foram analisados os seguintes parâmetros: coloração e volume;

3.4 ANÁLISES MICROSCÓPICAS

Uma lâmina e lamínula foram postas sob a mesa aquecedora a 37°, com auxílio de uma pipeta foi coletado 20µm de cada ejaculado in natura, foram levados ao microscópio para avaliação da motilidade total, motilidade progressiva, vigor.

Para análise da integridade da membrana foi realizado um esfregaço e após coloração supra vital do sêmen concentrado, uma gota de sêmen para uma gota de corante a base de eosina (Botuvital[®]), o esfregaço foi avaliado no microscópio no aumento de 100x em imersão, deve-se contabilizar de 100 a 200 células nas quais as que possuírem coloração branca, significa que não ocorreu a penetração na membrana, sendo assim considerados que estão com a membrana íntegra e coloração rósea, significa que ocorreu a penetração do corante na membrana, portanto estão com algum problema na integridade de membrana.

Após foi verificado a concentração, com auxílio de um eppendorf foi realizado a diluição do ejaculado na proporção de 1:19 (sêmen/água destilada), analisado em microscópio com auxílio da câmara de Neubauer.

Para análise morfológica, foi realizado um esfregaço com os sêmens já diluídos. Na lâmina foi fixado 20µm de sêmen, após, realizado a coloração; A lâmina com esfregaço ficou submersa no tubo com corante Skol durante 1 minuto, seguindo para o corante vermelho congo durante 1 minuto e após para o corante uar. Para a realização da leitura a lâmina foi levada ao microscópio, onde deve-se contabilizar 100 células de cada ejaculado, analisando a presença de alguma anormalidade (defeitos maiores ou menores) e células normais.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir das análises macroscópicas e microscópicas realizadas, foram encontrados os seguintes resultados, conforme descrito nas tabelas 1 e 2.

Tabela 1: Características obtidas na análise de sêmen do equino Terêncio de São Pedro.

Parâmetros Avaliados	Resultados Obtidos
Volume	38 ml
Cor	Branco Leitoso
Vigor Espermático	2
Motilidade Total	30%
Motilidade Progressiva	10%
Concentração Espermática/ ml	435,5 X 10 ⁶
Nº Total de Espermatozoides	16549 X 10 ⁶
Integridade de Membrana	41% Integras e 59% Com algum problema na membrana

Tabela 2: Características obtidas na análise de sêmen do equino Galo Cinza.

Parâmetros Avaliados	Resultados Obtidos
Volume	70 ml
Cor	Branco Aquosa
Vigor Espermático	3
Motilidade Total	70%
Motilidade Progressiva	40%
Concentração Espermática/ ml	113,8X 10 ⁶
Nº Total de Espermatozoides	7966X 10 ⁶
Integridade de Membrana	68% integras e 32% com algum problema na membrana

De acordo com as análises microscópicas realizadas a fim de se obter resultados sobre a morfologia das células espermáticas, foi possível verificar através das tabelas 3, 4 e 5 os resultados obtidos do garanhão Terêncio de São Pedro e através das tabelas 6, 7 e 8 os resultados obtidos do garanhão Galo Cinza:

Tabela 3: Resultados da morfologia de defeitos maiores, a partir do sêmen do equino Terêncio de São Pedro.

Defeitos Maiores Encontrados	Percentagem de Células com Patologia
Cabeça	
Raquetiforme	1%
Retroaxial	2%
Peça intermediária	
Disforme	1%
Ruturada	1%
Repregueada	1%
Cauda	
Gota proximal	1%
Gota presa na P.I.	4%
Fortemente dobrada	9%
Espiraliforme	9%
Enrolada cabeça	2%
Formas duplas	
Formas Teratológicas	3%

Tabela 4: Resultados da morfologia de defeitos menores, a partir do sêmen do equino Terêncio de São Pedro

Defeitos Menores Encontrados	Percentagem de Células com patologia
Acrossomo	
Grande	1%
Inserção Cauda	
Excêntrica	18%
Paraxial	1%
Peça intermediária	
Normal	1%
Curta	3%
Comprida	2%

Tabela 5: Total de Células analisadas, Garanhão Terêncio de São Pedro.

Defeitos menores	Defeitos maiores	Células Normais
25%	34%	41%

Tabela 6: Resultados da morfologia de defeitos maiores, a partir do sêmen do equino Galo Cinza.

Defeitos Maiores Encontrados	Percentagem de Células com patologia
Acrossomo	
Grande	4%
Pequeno	3%
Cabeça	
Estreita	3%
Peça intermediária	
Tipo fibrilar	1%
Cauda	
Gota proximal	1%
Gota presa na P.I.	2%
Fortemente dobrada	11%
Espiraliforme	2%
Enrolada cabeça	1%
Formas duplas	
Formas Teratológicas	1%

Tabela 7: Resultados da morfologia de defeitos menores, a partir do sêmen do equino Galo Cinza.

Defeitos Menores Encontrados	Percentagem de Células com patologia
Cabeça	
Raquetiforme	2%
Lanciforme	1%
Gigante	1%
Inserção Cauda	
Excêntrica	13%
Paraxial	7%
Peça intermediária	
Curta	9%

Tabela 8: Total de Células analisadas, Garanhão Galo Cinza..

Defeitos menores	Defeitos maiores	Células Normais
33%	29%	38%

Comparando os resultados obtidos com o estudo de Baumhardt e D'avila, (2017) foi possível constatar que o equino Terêncio de São Pedro, novamente baseando-se somente em uma colheita realizada, seu sêmen foi considerado de baixa qualidade, porém com mais colheitas realizadas regularmente poderia ocorrer um melhoramento neste ejaculado, pelo fato do animal estar a 7 meses em repouso sexual e cujo fato também ocorreu no estudo de Baumhardt e D'avila, (2017) no qual o equino estava com 10 meses de repouso sexual quando realizado o estudo, levando a um envelhecimento espermático.

Analisando o trabalho de Granemann (2006), os resultados de análises seminais de um garanhão da raça lusitana, com dois anos e quatro meses de idade, foram comparados com os resultados do Galo Cinza. O garanhão da raça lusitana obteve melhores condições quanto a motilidade espermática, vigor e um número menor de defeitos. Pelo motivo do Galo Cinza não estar familiarizado com a VA e tempo significativo até a ejaculação, obteve-se indícios menores comparado ao equino da raça lusitana. Com a sequência de colheitas, há chances de que a qualidade espermática tenha um avanço esperado para uma boa fertilidade.

5. CONCLUSÃO

Concluiu-se através deste estudo que não é possível determinar a qualidade seminal e potencial reprodutivo de um equino através de somente um ejaculado, pelo fato que durante o processo de produção espermática que dura em torno de 60 dias, o animal possa a ser submetido a situações de estresse que possa interferir na produção espermática.

Pode-se considerar também que o equino Terêncio de São Pedro, não se encaixaria nos padrões esperados em programas de reprodução, contudo leva-se em consideração que somente um ejaculado foi coletado, sendo que o garanhão estava em repouso sexual.

Considerando que o garanhão Galo Cinza não estava familiarizado com a Vagina Artificial e que era sua primeira colheita, não se obteve resultados satisfatórios. Para que se adquira um desempenho definitivo para reprodução, seria necessário que o equino fosse examinado

regularmente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMANN, R. P.; KATZ, D.F. Reflections on CASA after 25 years. **J. Androl.**, v.25, p.317-325, 2004.

ARRUDA, R.P.; BARNABE, V.H.; ALENCAR, M.M.; BARNABE, R.C. Avaliação de sêmen congelado de bovinos. Provas lente e rápida de termo resistência: efeitos sobre a fertilidade. **Brasilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 29, n. 1, p. 131- 137, 1992.

AX, R. L.; DALLY, M. R.; DIDIDON, B. A.; LENZ R. W.; LOVE, C. C., VARNER, D. D.; HAFEZ, B. e BELLIN, M. E. **Avaliação do Sêmen e Inseminação Artificial** In: HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. Reprodução Animal. 7 Ed. São Paulo: Manole, Cap. 25 e 26, 2004.

BARTH, A.D.; OKO, R.J. **Abnormal morphology of bovine spermatozoa**. Ames: Iowa State University Press, p.285, 1989.

BERBER, R. C. A.. **Coleta e Processamento de Sêmen Bovino, Universidade Estadual do Paraná, 2008**

BIELASNKI, W.; KACZMARSKI, F.; Morphology of spermatozoa in sêmen from stallions of normal fertility, **J. Reprod. Fertil., Suppl.** 27, p. 39-45, 1979.

BOCHIO, L. **Inseminação Artificial; ABQM**, 2006.

BLOM, E. The ultrastructure of some characteristic sperm defects and a proposal for a new classification of the bull spermogram. **Nord. Veterinaarmed.**, v. 25, p. 383-391, 1973.

BROOM, D. M.; FRASER, A. F.; **Comportamento e bem- estar de animais domésticos**, Manole, São Paulo, ed 4, p 140 , 2010.

CARVALHO, G. R. **Fertility of the diluted equine semen, Cold to 20°C and transported. 1992. 87 f. Thesis (Magister Scientiae)** – Department of Animal Science Federal University of Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, 1992.

CBRA. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 2ª Ed. Belo horizonte, 49p., 1998.

CHALHOUB, M; CARVALHO, G; FILHO, J.M.S; FILHO, A.L.R; OLIVEIRA, J.V.L. Fertilidade de éguas inseminadas com sêmen equino diluído, resfriado a 20°C e transportado a diferentes momentos da ovulação. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, 1996.

COLVILLE T.; BASSERT J.; **Anatomia e Fisiologia Clínica para Medicina Veterinária**, Elsevier Editora Ltda, Rio de Janeiro, ed. 2, 387p., 2010.

DOTT, D. M. Morphology of stallion spermatozoa. **J. Reprod. Fertil.**, Suppl. 23, p. 41-46, 1975.

GRAHAM, J.K.; MOCÉ, E.; Fertility evaluation of frozen/thawed semen. **Theriogenology**, v.64, p. 492-502, 2005.

GRANEMANN, L.C.; **Avaliação comparativa do sêmen equino colhido com vagina artificial e por lavado intraluminal da cauda do epidídimo pós-orquiectomia**, Curitiba-PR, 2006.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**, 7 ed., São Paulo, p.513-530, 2003.

HENINGER, N.L.; STAUB, C.; BLANCHARD, T.L.; JOHNSON, L.; VARNER, D.D.; FORREST, D.W. Germ cell apoptosis in the testis of normal stallions. **Theriogenology**, v.62, p.283-297, 2004.

HOWARD, T.W.; PACE, M.M. Seminal evaluations and artificial examination. In: **Fertility and infertility in Veterinary Practise**. 4. Ed. London: Bailliere Tindall,. P. 39-51. 1988.

JEYENDRAN, R. S.; VAN DER VEM, H.H.; PEREZ, P. M.; CRABO, B.G.; ZANEVELD, L. J. Development of na assay to assess the functional integrity of the human sperm membrane and its relation ship to other sêmen characteristics. **Journal Reproduction Fertility**, v. 70, p.219-228, 1984.

KATILA, T.; In vitro evaluation of frozen-thawed Stallion Semen: a review. **Acta. Vet. Sacand**. V.42, p. 199-217, 2001.

KENNEY, R. M.; HURTGEN, J.; PIERSON, R.; WITHERSPOON, D.; SIMONS, J.; **Manual for clinical fertility evaluation of the stallion**. Society for Theriogenology, 1983.

KENNEY, R.M. Manual for breeding soundness examination of stallions. **Theriogenology**, v.9, p. 327-36, 1983.

MAGISTRINI, M.; Semen Evaluation. Em: SAMPER, J. C. **Equine Breeding Management and Artificial Insemination**. Philadelphia: W. B. Sauders Company, cap. 08, 2000.

MAPA, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Equídeos**, 2016, Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/equideos>> Acessado em: 19/08/2018.

MARTINS, M. S.. **Reprodução, Reprodução de Equinos**. Instituto de Pós-Graduação Qualittas, Piracicaba-SP, 2011.

MELO, M.I.V. **Teste hiposmótico na avaliação do sêmen equino**, p. 67, Belo Horizonte, 1999.

PICKETT, B. W. Seminal extender and cooled semen, in MCKINNON, A. O.: VOSS, J. L.: **Equine Reproduction**, p. 746-754, 1993.

PICKETT, B. W.; VOSS, J. L.; Reproductive management of the stallion, IN: 18th Annual Convention A.A.E.P, **Proceedings**, p.501-531, 1972.

PYCOCK, J. F. **Artificial insemination: Proceedings of the 10th International Congress of World Equine Veterinary Association**, Moscovo, Rússia, 224-234. 2008.

REECE, W.; Anatomia Funcional e Fisiologia dos Animais Domesticos, Roca, São Paulo, ed 3,p 358, 2015.

RIGBY, S. L.; VARNER, D. D.; THOMPSON, J. A.; LOVE, C.C.; BRISKO, S. P.; BLANCHARD, T. L. **Measurements of sperm concentration in stallion ejaculates using photometric or direct sperm enumeration techniques: Proceedings of the Annual Convention of the AAEP 2001**, 236-238, 2001.

SALVADOR, D.F. **Perfis andrológicos, de comportamento sexual e desempenho reprodutivo de touros Nelore desafiados com fêmeas em estro sincronizado**. 2001. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2001.

SAMPER, J. C. **Management and fertility of mares bred with frozen sêmen: Animal Reproduction Science** 68, 219-228. 2001.

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

SANTOS, A. D. F.; TORRES, C. A.A.; FONSECA, J. F.; BORGES, A. M.; ROVAY, H.; GORETTI, R. G.; GUIMARÃES, J. D.; COSTA, E. P.; BARBOSA, L. P.; MAFFILI, V. V.; FRAGA, D. B. M. Uso do teste hiposmótico (HOST) para avaliar a congelabilidade do sêmen de caprinos das raças Alpina e Saanen, jovens e adultos, submetidos ao manejo com luz artificial. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v. 25, n.3, 2001.

SILVA FILHO, J. M. **Aspects of the reproductive handling and of the semen in the artificial insemination in mares**. 1994. 402 f. Thesis (Doctor Scientiae) – Department of Animal Science Federal University of Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, 1994.

TERRACIANO, P. **Criopreservação de espermatozoides equinos comparando duas curvas de congelamento combinadas com diluentes comerciais: uma análise laboratorial**. 2008.

VARNER, D. D.; BLANCHARD, T.L.; LOVE, C. L.; GARCIA, M. C.; KENNEY, R. M. Effects of cooling rate and storage temperature on equine spermatozoal motility parameters. **Theriogenology**, v.29, n. 5, p.1043-1054, 1988.

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

ANEXO 1



Figura 1: Colheita de sêmen no garanhão Terêncio de São Pedro, Foto: SIMÕES, N.P., 2018. Faculdade Ideau- Bagé, RS

ANEXO 2



Figura 3: Colheita de sêmen no garanhão Galo Cinza Foto: SIMÕES, N.P., 2018. Faculdade Ideau- Bagé, RS