

CENTRO UNIVERSITÁRIO BRASILEIRO - UNIBRA
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

JEYMISSON HENRIQUE SANTOS DO NASCIMENTO
JOÃO VICTOR GOMES GUERRA
MANOEL FELIPE TRAJANO GREGO PEPEU

**PRINCÍPIOS DA MORFOLOGIA ESPERMÁTICA E
EXAME ANDROLÓGICO NA PERFORMANCE DO
GARANHÃO**

RECIFE/2022

JEYMISSON HENRIQUE SANTOS DO NASCIMENTO
JOÃO VICTOR GOMES GUERRA
MANOEL FELIPE TRAJANO GREGO PEPEU

PRINCÍPIOS DA MORFOLOGIA ESPERMÁTICA E EXAME ANDROLÓGICO NA PERFORMANCE DO GARANHÃO

Monografia apresentada ao Centro Universitário Brasileiro – UNIBRA, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Professor (a) Orientador (a): M.s Daniel da Silva Praia

RECIFE/2022

Ficha catalográfica elaborada pela
bibliotecária: Dayane Apolinário, CRB4- 1745.

N244p Nascimento, Jeymisson Henrique Santos do
Princípios da morfologia espermática e exame andrológico na
performance do garanhão / Jeymisson Henrique Santos do nascimento,
João Victor Gomes Guerra, Manoel Felipe Trajano Grego Pepeu. - Recife:
O Autor, 2022.

32 p.

Orientador(a): M.s Daniel da Silva Praia.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Centro Universitário
Brasileiro – UNIBRA. Bacharelado em Medicina Veterinária, 2022.

Inclui Referências.

1. Morfologia espermática. 2. Fertilidade. 3. Desempenho
Reprodutivo. 4. Exame Andrológico. I. Guerra, João Victor Gomes. II.
Pepeu, Manoel Felipe Trajano Grego. III. Centro Universitário Brasileiro -
UNIBRA. IV. Título.

CDU: 619

PRINCÍPIOS DA MORFOLOGIA ESPERMÁTICA E EXAME ANDROLÓGICO NA PERFORMANCE DO GARANHÃO

Jeymisson Henrique Santos do Nascimento

João Victor Gomes Guerra

Manoel Felipe Trajano Grego Pepeu

Daniel Praia ¹

RESUMO: O tema da Morfologia Espermática tem sido bastante comentado na área da Medicina Veterinária, tendo em vista que as pesquisas e estudos, tendo em vista o fato de que se conduzidos à uma rigidez laboratorial de qualidade e um bom manejo reprodutivo é possível garantir qualidade na performance do garanhão. Sabendo disso, esse trabalho tem como objetivo realizar um estudo bibliográfico sobre a morfologia espermática e a qualidade do exame andrológico na performance do equino. Para chegar a esse objetivo realizou-se uma Revisão de Literatura de abordagem integral, através das seguintes bases de dados SCIELO (*Scientific Electronic Library Online*), LILACS (Literatura Latino-americana e do Caribe em Ciências da Saúde), MEDLINE (*Medical Literature Analysis and Retrieval System Online*). Verificou-se diante do que foi analisado que é preciso o reconhecimento mais apurado da morfologia espermática e do exame andrológico para evitar falhas e diminuir possíveis porcentagens de defeitos em relação a fertilidade do garanhão, permitindo assim, que o ciclo reprodutivo equino seja saudável e lucrativo.

Palavras-chaves: Morfologia Espermática. Fertilidade. Desempenho Reprodutivo. Exame Andrológico.

ABSTRACT: The theme of Sperm Morphology has been much commented in the area of Veterinary Medicine, in view of the research and studies, having in view the fact that if conducted to a quality laboratorial rigidity and a good reproductive management it is possible to guarantee quality in the stallion's performance. Knowing this, this work aims to perform a bibliographic study on sperm morphology and the quality of the andrology exam in the equine performance. To reach this objective, an integral literature review was carried out using the following databases: SCIELO (Scientific Electronic Library Online), LILACS (Latin American and Caribbean Literature on Health Sciences), MEDLINE (Medical Literature Analysis and Retrieval System Online). It was verified in the face of what was analyzed that it is necessary to have a more accurate recognition of sperm morphology and andrological examination to avoid failures and reduce possible percentages of defects in relation to the stallion's fertility, thus allowing the equine reproductive cycle to be healthy and profitable.

Key words: Sperm Morphology. Fertility. Reproductive Performance. Andrological Examination

¹ Professor da UNIBRA M.s.c. Daniel Praia. E-mail: : daniel.silva@grupounibra.com

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Anatomia do pênis do garanhão	10
Figura 2. Aparência ultrassonográfica normal dos quatros tipos de glândulas sexuais acessórias presentes no garanhão	15
Figura 3. Conteúdo purulento, sanguinolento e erosões na vesícula	17
Figura 4. Técnica do esfregaço	18
Figura 5. Não ejaculação nos garanhões	22
Figura 6. Classificação do vigor da motilidade espermática	24
Figura 7. Modelo de container para transporte de sêmen equino refrigerado	25

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	07
2 METODOLOGIA	09
3 DESENVOLVIMENTO	10
3.1 Anatomia do Macho	10
3.2 Anatomia da Célula Espermática	13
3.3 Endocrinologia	13
3.4 Puberdade	14
3.5 Exame Andrológico	15
3.5.1 Sequências e Matérias do Exame.....	15
3.5.2 Ultrassonografia no Exame Andrológico.....	16
3.6 Morfologia Espermática	18
3.6.1 Semiologia do Aparelho Reprodutor Masculino.....	20
3.6.2 Formação do Espermatozoide	21
3.6.3 Ejaculação	21
3.7 Principais alterações que impedem a ejaculação	22
3.7.1 Disfunções que impedem a cópula.....	22
3.8 Viabilidade espermática	24
3.8.1 Coleta do sêmen	24
3.8.2 Análise e exames do sêmen.....	24
3.9 Manipulação do sêmen	26
3.9.1 Sêmen fresco.....	26
3.9.2 Sêmen Resfriado.....	26
3.9.3 Sêmen Congelado.....	27
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	28
REFERÊNCIAS	29

1 INTRODUÇÃO

O segmento de equinocultura vem crescendo nos últimos anos e tornando-se um ramo de grande lucratividade, por suas características associadas a vitalidade, beleza e versatilidade. Dados do IBGE- Instituto Brasileiro de Estatísticas Geográficas apontam um crescimento de 1,9% do rebanho em 2020, contabilizando um total de 5.962.126 animais no país, destacando-se um aumento de 13% para região do Centro-Oeste, onde se encontra o maior contingente de equino do país com 1.357.940 animais (IBGE, 2021).

Nesse ínterim, é preciso compreender que os negócios relacionados a equinocultura envolvem muito mais do que a relação compra e venda, pois a criação de cavalos exige o conhecimento técnico e apurado da reprodução e o melhoramento genético das espécies, visando o aumento de potros anualmente, tornando a atividade ainda mais rentável e valorizada (DA SILVA, et al., 2020).

Para que essa meta tenha um alcance de sucesso é imprescindível que a reprodução equina seja realizada com acuidade, aprofundamento e técnica. O entendimento do processo reprodutivo equino ocorre por meio de etapas que são necessárias e devem seguir parâmetros de qualidade. Uma dessas etapas, corresponde a espermatogênese que se destina a produção de espermatozoides no parênquima testicular, cujo tempo de realização é de 57 dias dividida em três fases: spermatocitogênese, espermatogênese e espermiogênese (BARROS, 2021).

Nesse sentido, dando sequência a lógica, segue o exame andrológico responsável pela avaliação do potencial reprodutivo dos machos, verificando o desenvolvimento do aparelho reprodutor e o comportamento do macho em relação a fêmea. Em seguida, avalia-se a quantidade/volume de sêmen ejaculado, verificando sua cor, densidade, odor, motilidade e vigor. E por fim, se realiza a avaliação imediata, através do estudo estático da célula, fazendo a concentração, integridade de membrana e morfologia espermática (OLIVEIRA et al., 2019).

Essas etapas do processo reprodutivo equino corresponde a avaliação morfológica, ou seja, a análise das células espermáticas para identificação da qualidade e fertilidade espermática do garanhão. A morfologia espermática tem como meta, a síntese detalhada das estruturas anatômicas do espermatozoide, classificando-o de acordo com o seu potencial e patologias apresentadas (RIBEIRO, 2020).

Mediante o que foi dito, a presente pesquisa tem como objetivo realizar um estudo bibliográfico sobre a morfologia espermática e a qualidade do exame andrológico na performance do equino. Assim, com base nas publicações científicas em relação ao tema buscou-se compreender a anatomia do macho garanhão, desde a célula espermática, passando pela endocrinologia e puberdade. Esse entendimento é necessário para aprofundar o conhecimento relacionado ao exame andrológico e a sequência necessária que caracteriza a semiologia do aparelho reprodutor masculino, bem como a formação do espermatozoide. A partir de então, é possível identificar as alterações que impedem a ejaculação e as disfunções de viabilidade espermática através da manipulação dos vários tipos de sêmen, fatores essenciais, obtidos pela avaliação morfológica que garantem uma melhor eficiência reprodutiva (LOPES, 2018).

2 METODOLOGIA

O estudo terá como percurso metodológico uma Revisão de Literatura de abordagem integral. Esse tipo de revisão é um termo genérico que compreende os trabalhos publicados a partir de um exame de literatura com assuntos específicos (GALVÃO; RICARTE, 2019).

O procedimento técnico utilizado para a construção do embasamento teórico deste trabalho foi realizado através de uma pesquisa bibliográfica por meio de consultas em livros, artigos, periódicos anexados, anais de congressos, dissertações de mestrado, teses de doutorado e bases eletrônicas de dados como Google Acadêmico, *Scientific Eletronic Library Online* (Scielo), EBSCO *host* e Biblioteca Virtual de Saúde (BVS), utilizando os descritores: morfologia espermática equina, fertilidade, desempenho reprodutivo, exame andrológico.

O espaço temporal foi de indexos e trabalhos publicados nos últimos cinco anos (2018-2022), porém, quando necessário recorreu-se, a publicações de outros períodos tomando como referência, os métodos de seleção metodológico baseado na afinidade quanto à natureza dos conteúdos, vislumbres de indexos em revistas de prestígio de fator de impacto, dissertações e teses de instituições de renomes.

Em relação aos critérios de elegibilidade foram considerados como inclusão: artigos publicados em português e inglês; disponíveis na íntegra. Como exclusão: foram descartados trabalhos que não correspondem ao período de publicação indicada, opiniões sem fundamentos teóricos.

3 DESENVOLVIMENTO

3.1 Anatomia do Macho

Para que ocorra uma avaliação de qualidade do garanhão fértil é preciso a compreensão da localização normal, forma e tamanho de cada órgão. A genitália desse animal é constituída de pênis, prepúcio, uretra peniana, escroto, testículos, epidídimos e cordão espermático. O pênis é responsável pela cópula, formado por base, corpo e glândulas penianas, além de ser composto por compartimentos independentes, cuja primeira estrutura é formada por um corpo esponjoso e glândulas da uretra, constituído de tecido cavernoso. Os espaços cavernosos se juntam e formam a glande, responsável pelo crescimento das glândulas após estímulo do órgão (SANTOS, 2018).

O prepúcio recobre a porção livre do pênis, quando ele não está ereto. A parte externa se estende formando o escroto até a região umbilical, constituindo o óstio prepucial ou bainha, onde fica a parte cranial do pênis, formada de uma estrutura tubular membranosa que começa da bexiga até a glande se dividindo em divertículos onde se acumulam o esmegma (FRANCO, et. al., 2019). Pode-se perceber na figura abaixo a anatomia do pênis do garanhão, conforme a Figura 1:

Figura 1: Anatomia do pênis do garanhão



Fonte: BETTENCOURT, et al., 2018

Os testículos são recobertos de uma túnica albugínea que sustenta e divide eles em lóbulos, encontrando-se os vasos sanguíneos para entrada e saída de hormônios e nutrientes, onde fica localizado o tecido intersticial, composto por células de Leydig. Os túbulos seminíferos convolutos originam os túbulos seminíferos

retosque atuam na zona de passagem culminando no ducto epididimário (FERNANDES, 2022).

Quando as células germinativas se desenvolvem, são liberadas as espermátides dentro do lúmen dos túbulos de seminíferos, antes de irem para o epidídimo. Nesse instante, os espermatozoides, passam por processo bioquímico para se tornarem móveis e férteis. O epidídimo se divide em: corpo, cauda e cabeça, além de possui três segmentos denominados de cabeça proximal, epitélio dos ductos eferentes, e segmento terminal (CARNEIRO, 2016).

3.2 Endocrinologia

Quanto a fisiologia na reprodução dos equinos, está interligada a sazonalidade das estações do ano. Ao longo dessas estações, os garanhões sofrem influência da intensidade e quantidade de luz que alteram e possuem importância reprodutiva determinando, assim, o acasalamento e o nascimento de potros (BUENO; ARAÚJO BASTOS 2021).

Assim, existe um hormônio denominado de melatonina, produzido na glândula pineal que além de possuir outras funções, como sintetizar, transportar sangue e servirem de mecanismo de ação, é também responsável pela reprodução nos equinos. Essa melatonina é sintetizada no aminoácido triptofano através das enzimas: Nacetiltransferase (NAT) e hidróxido-O-metiltransferase (HIOMT). A melatonina controla a secreção do Hormônio Liberador de Gonadotrofina (GnRH), que controla a secreção do Hormônio Folículo Estimulante (FSH) e do Hormônio Luteinizante (LH), responsáveis pela espermatogênese nos machos (CAMARGO, 2022).

A melatonina bloqueia a secreção de GnRH, reduzindo a liberação de FSH e LH, ou seja, a luz natural é importante para regular os ciclos do sistema endócrino e reprodutivo, fazendo com que o organismo se torne ideal para a reprodução. O mecanismo para o acontecimento desse processo, depende da duração do período de luz de um determinado local a depender da latitude e estação do ano, pois os animais reagem de acordo com a durabilidade da luminosidade diária a que estão submetidos. Essas alterações no ciclo modificam a atividade hormonal da glândula pineal desempenhando um papel no controle neuroendócrino do ritmo circadiano da fisiologia reprodutiva (MACIEL, 2020).

O mecanismo para que isso ocorra depende da interação entre os hormônios. Para isso, o hipotálamo que fica logo acima da hipófise estimulando o ciclo de reprodução dos equinos por meio do hormônio GnR, atua na adenohipófise, desencadeando a secreção de outros dois hormônios, o FSH e LH nas células testiculares que formam o espermatozoide. O LH produz e libera a testosterona do estrógeno nas células Leydig, mantendo as características masculinas e atuando através das células de Sertoli na regulação da produção de proteínas que são importantes para a função gametogênica. Atuam nesse processo também, a inibina e ativina, responsáveis pela regulação e controle do FSH e do fluido seminífero tubular mantendo a barreira hematotesticular e sustentando as células germinativas (GONZALEZ, 2022)).

Além desses hormônios, pode-se mencionar: Prolactina, Hormônios da Tireoide, Hormônios do Crescimento e Opioides. A prolactina é secretada pela adenohipófise e regula diversos processos no garanhão, juntamente com o LH e o hormônio do crescimento- GH, atuando no controle da síntese de receptores no testículo (HONDO, 2020).

O hormônio do crescimento, realiza a síntese de hormônios esteroides e na gametogênese. Quando ocorre baixo índice de GH, indica-se um tratamento à base de suplementação para gerar um aumento na concentração plasmática de IGF-1 e restaurar a motilidade espermática já os opioides são hormônios secretados pelo cérebro, cuja ação diminui a liberação de GnRH durante o período de inverno exigindo a presença de gônadas funcionais (PAUL, 2020).

3.2 Anatomia da Célula Espermática

A célula espermática é dividida morfológicamente em cabeça, colo e cauda. Na espécie equina apresenta formato achatado semelhante a uma raquete, e possui as seguintes dimensões: 60-65 μm em seu comprimento total, sendo 40 μm correspondente a sua peça principal, 6-7 μm de cabeça (onde é considerada a porção mais larga da célula, é nela que fica localizado o acrossoma e o núcleo), 10 μm correspondente a peça intermediária e 4-5 μm a peça final. O acrossoma é uma organela que foi desenvolvida através do complexo de Golgi e é composta por enzimas hidrolíticas em seu interior, essas enzimas por sua vez, vão sendo liberadas

na reação acrossomal, com o intuito de haver penetração do espermatozoide no ócito (SANTOS, et al., 2018) .

A membrana plasmática recobre toda a célula espermática, possuindo agregados de lipídeos e proteínas com função de manter suas características químicas solúveis, e isso ocorre devido a semipermeabilidade. Ela atua ainda como uma barreira, mantendo então, em seu devido lugar, as composições do interior e do exterior da célula, evitando danos na estrutura no momento do ejaculado que possam causar perda da homeostase e morte celular. As alterações entre os meios podem estar relacionadas ao pH, a temperatura e a osmolaridade. Devido a isso, apenas um pequeno número de células, de bilhões que foram ejaculadas, chegarão ao oviduto. Os espermatozoides ejaculados são incapazes de fecundar ócitos sem que antes sofram algumas modificações no trato reprodutivo feminino, esse processo é chamado de capacitação espermática. Eles precisam sofrer ainda uma reação acrossômica que se trata de um distúrbio que ocorre na membrana plasmática, ou seja, após a capacitação espermática, eles respondem ao estímulo que é desencadeado pela zona pelúcida, ocorrendo o processo de reação acrossômica(FARRÁZ, 2012).

3.3 Puberdade

A puberdade é o período da vida em que se inicia capacidade reprodutiva, caracterizada pelo desenvolvimento de órgãos sexuais e a ocorrência de características sexuais secundárias. No entanto, este evento não coincide necessariamente com o amadurecimento funções endócrinas dos testículos (maturação sexual) (MATOS; BASTOS, 2018).

Nos equinos machos, a fase infantil dura aproximadamente seis meses e após esse período acontecem mudanças que podem determinar o início da puberdade, demarcada por alguns fatores, como peso corporal, fotoperíodo e nutrição. Além desses fatores, taxas de crescimento e processos metabólicos também possuem efeito estimulante ou inibidor no início da puberdade. Diante disso, não se pode dizer que puberdade de um garanhão é determinada, pois há uma totalidade de processos que representa esse período que se define normalmente, quando os testículos se tornam ativos para a produção testosterona, com valores acima de 0,5 ng/ml e com capacidade de produzir 50×10^6 espermatozoides por ejaculado com mais de 10% de motilidade (MORAIS, 2020).

A testosterona não pode ser detectada até 32 semanas de idade, com início da puberdade às 83 semanas. Os esteroides aumentam por volta dos 15 meses de idade, mas poucos espermatozoides são produzidos nesse período. Quando atinge a idade adulta e já ocorre o processo de produção de espermatozoide, existem mecanismos ou técnicas que podem analisar a reprodução desses animais (SANTA, 2019).

3.5 Exame andrológico

Para avaliar a reprodução equina é importante que o garanhão seja submetido a exames andrológicos de rotina. O primeiro passo é a avaliação do sistema reprodutivo para observar o desenvolvimento completo do animal e sua capacidade de coletar esperma ou realizar acasalamento natural, avaliando sua viabilidade testicular e possível interferência do ambiente associado diretamente com sua capacidade reprodutiva. (SILVA;MORELLI, 2019 2019).

Este estudo é um dos pontos-chave para o diagnóstico do potencial reprodutivo do animal, mas existem outros aspectos, como alimentação inadequada, vitaminas e minerais, como vitamina E e selênio, manuseio inadequado, estresse térmico excessivo, intensidade de treinamento, lesões do sistema musculoesquelético, uso prolongado antibióticos, principalmente aminoglicosídeos e cefalosporinas, e doenças infecciosas, que leva à orquite e podem atrapalhar a reprodução desses animais(MAITAN, 2020).

3.5.1 Sequências e materiais do exame

O exame andrológico do garanhão deve ser dividido em quatro etapas: Identificação, anamnese, exame clínico e análise espermática. Inicialmente, realiza-se a identificação do nome, registro, idade e raça do animal a ser avaliado. As informações referentes ao proprietário também devem ser registradas. A anamnese consiste em um levantamento de informações sobre as condições e o intervalo entre a reprodução. Parâmetros de sistema respiratório, cardíaco, digestivo devem ser aferidos para garantir a rigidez do animal. Em seguida deve ser feito o exame clínico do trato reprodutivo. Tanto o pênis como o prepúcio devem ser vistoriados em busca de feridas ou distúrbios sugestivos de traumas ou da ocorrência de doenças (MAZZUCHINI, 2020).

Na palpação, o escroto deve apresentar pele delgada, consistência fibroelástica e mobilidade em relação aos testículos. Os testículos são medidos individualmente

utilizando um paquímetro. A temperatura testicular deve estar próxima de 35 graus Celsius (CHAGAS, 2021) .

Com relação a avaliação macroscópica do sêmen, deve-se levar em consideração a cor, odor, volume pH, e densidade da amostra obtida. Diferentes fatores, como sazonalidade, carência alimentar e manejo inadequado do animal no momento da coleta, podem interferir no volume seminal. A coloração normal do sêmen é branca acinzentada e a densidade está diretamente relacionada com a concentração espermática. O odor da amostra seminal deve ser característico, *sui-generis* (SANTOS et al., 2018).

Pontos importantes a serem analisados microscopicamente são a motilidade, vigor, concentração espermática e as características morfológicas das células espermáticas. A motilidade espermática corresponde ao número de espermatozoides móveis da amostra. O vigor representa a intensidade com a qual os espermatozoides se deslocam. O número total de espermatozoides na ejaculação do garanhão deve variar entre 5 e 15 bilhões. Finalmente, deve-se realizar a avaliação morfológica das células espermáticas, sob microscopia de luz. Esta análise consiste na avaliação de 100 a 200 espermatozoides quanto a morfologia da cabeça, peça intermediária e cauda. Em garanhões devem apresentar entre 60 e 90% de espermatozoides morfolologicamente normais (CUERVO-ARANGO, 2018).

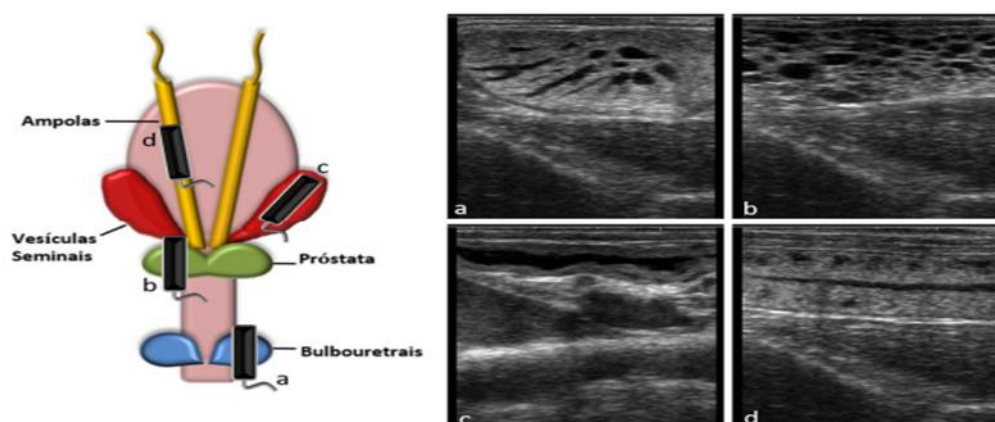
3.5.2 Ultrassonografia no exame andrológico

A avaliação ultrassonográfica foi introduzida na prática da veterinária em meados da década de 1980, este exame é eficaz na avaliação do trato reprodutor de garanhões. O conhecimento da aparência ultrassonográfica normal é fundamental nesse aspecto e varia de acordo com as diferenças dos animais. No exame andrológico do garanhão, as vesículas seminais apresentam-se de forma ovalada e triangular em relação a mucosa, que só pode ser visualizada de maneira mais nítida quando não está em repouso sexual (BERGAMO et al., 2020).

Em relação as glândulas ampolares vesiculares em razão do seu formato alongado e pequeno diâmetro é possível ser visualizada na geração de três cortes ultrassonográficos transretal, abdominal, escrotal, onde se identifica a próstata, situada dorsalmente à uretra pélvica próximo ao colo da bexiga por istmo e unido pelos ductos prostáticos ao redor do colículo seminal. Quando afetada por concentrações

circulantes, a próstata aumenta de tamanho. É possível ainda, identificar na ultrassonografia, as glândulas bulbouretrais que ficam localizadas centímetros caudal junto à próstata, próximo da raiz peniana, caracterizadas como espécie de glândulas parenquimatosas multilobuladas que aparece como estruturas ocais em pequenos espaços, (SALES, 2020). conforme demonstra figura 2 abaixo:

Figura 2: aparência ultrassonográfica normal dos quatro tipos de glândulas sexuais acessórias presentes no garanhão a) Bulbouretral; b) próstata; c) vesícula seminal; d) ampola do ducto deferente



Fonte: SILVA, 2022

A ultrassonografia Doppler também pode ser uma ferramenta bastante útil para verificar alterações nas glândulas sexuais. Assim como a endoscopia do aparelho reprodutor que permite verificar a uretra e vesículas seminais nos diagnósticos, investigando o tratamento de afecções reprodutivas ou piospermia, cálculo uretral, obstrução uretral, uretrite, vesiculite seminal e fístulas uretrais (ARROJA, 2022).

O Doppler é aplicado para avaliar a perfusão dos testículos, que está intimamente relacionada ao bom funcionamento dos testículos e do epidídimo, permitindo a diagnose de suas patologias. Em machos já é utilizado para diagnosticar distúrbios de fertilidade, porém em garanhões os parâmetros tipicamente aplicados para prever disfunções reprodutivas são indeterminados e tardios, o que pode comprometer a fertilidade futura de animais importantes e preciosos. A diminuição da produção e qualidade dos espermatozoides pode ser resultado de diversos fatores, desde processos agudos como traumas e aumento da temperatura testicular, até patologias primárias que causam disfunção testicular, como a varicocele.

Consequentemente, o diagnóstico precoce da origem do distúrbio e o tratamento oportuno evitarão a instalação de processos degenerativos e irreversíveis (MALSCHITZKY, 2018).

Para esse exame, indica-se um videoendoscópio flexível com diâmetro de 10mm, pinças de biópsia, solução fisiológica, seringas, além de contenção do animal e fármacos como: fenotiazínicos e sedativos, ou butorfanol e passagem da sonda endoscópica pela uretra e colículo seminal, conforme a figura 3 abaixo, onde foi possível verificar conteúdo purulento, sanguinolento e erosões na vesícula (SILVA, 2022).

Figura 3: conteúdo purulento, sanguinolento e erosões na vesícula a) Aparência endoscópica de uma vesícula seminal apresentando conteúdo purulento quadro de vesiculite seminal b) Glândula vesicular em processo de lavagem com solução estéril.



Fonte: SILVA, 2022

3.6 Morfologia espermática

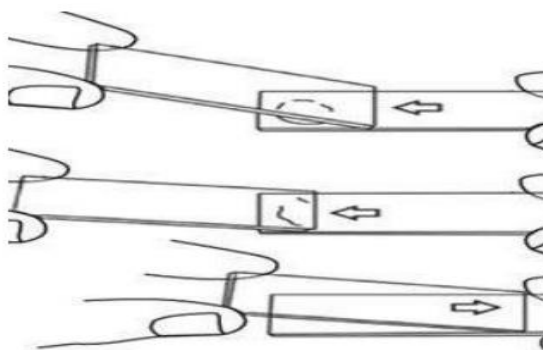
A avaliação da morfologia espermática é o estudo da anatomia das células espermáticas obtidas na coleta do sêmen. Esse tipo de avaliação classifica as células em normais e nas que apresentam defeitos ou outras patologias. A partir das informações da avaliação morfológica é possível, juntamente com o exame andrológico, analisar a fertilidade do garanhão, separando os animais em fértil, subfértil e infértil, considerando as características do sêmen. No processo de avaliação da morfologia é possível verificar as células anormais e alterações patológicas na cabeça, peça intermediária, cauda, etc (MALSCHITZKY, 2018).

Essas alterações, ou defeitos, podem ser visualizados ao longo da espermatogênese e são classificados em primários, secundários e terciários. Existe também a classificação em compensatória e não compensatória quando aumentar a concentração espermática na inseminação pode compensar ou não os defeitos, sendo usual aquela que separa as patologias em defeitos maiores e menores considerando

o impacto na fertilidade do sêmen. Os defeitos maiores são formados na espermatogênese e pode ocasionar impacto na capacidade de fecundação do espermatozoide. Nos defeitos maiores, a má formação é caracterizada pela má distribuição do material genético da cabeça, ocasionando uma assimetria após o acrossoma e responsáveis por ocasionar impacto na capacidade fecundante, ocasionando: cauda fortemente dobrada/enrolada, cabeça piriforme, gotas citoplasmáticas proximais e espermatozoides subdesenvolvidos. Já os defeitos menores são formados no final da espermatogênese e em decorrência da manipulação do sêmen causam pouco efeito em relação a capacidade fecundante, gerando os seguintes defeitos: gota citoplasmática distal, cauda levemente enrolada ou dobrada, cabeça gigante e cabeça pequena (SALES, 2020)

Os métodos tradicionais para analisar a morfologia espermática se caracterizam pela avaliação microscópica. As características são analisadas por meio de esfregaços corados de corantes: Wright, Rosa de Bengala, Giemsa, Eosina-nigrosina, Karras, Vermelho Congo ou ainda pela técnica de câmara úmida. Quando há a microscopia ótica é importante utilizar o esfregaço corado, pois o espermatozoide é uma célula translúcida e sem presença do corante não se consegue visualizar nitidamente o contorno celular. O preparo dos esfregaços, conforme figura 4 demonstra, ocorre após coleta do sêmen, onde se prepara de dois a três esfregaços com gota de sêmen puxada sobre a lâmina de dois a três esfregaços para a lâmina base para evitar as lesões dos espermatozoides (HENRIQUES;CORREIA, 2019).

Figura 4: Técnica do esfregaço



Fonte: SALVADOR;FOLHADELLA, 2021

Na sequência, procede-se a coloração com protocolo de cada corante, contando e anotando os defeitos individualmente de no mínimo 200 células. Após,

deposita-se em um frasco com 1 ml de solução formol-salina tamponada aquecido em 37°C gotas do sêmen obtendo consistência leitosa e analisando com contraste de fase com aumento de 1000x, classificando de acordo com os defeitos de forma e estrutura, ou seja, defeitos de cabeça e cauda . O padrão aceitável de defeito é de 30% do total de células do ejaculado, sendo 10% defeitos maiores e 20% defeitos menores. Animais que ultrapassam essa porcentagem são considerados sub férteis e inférteis. De acordo com os sinais apresentados, o ideal é retirar os agentes causadores por meio da terapia de suporte e dos agentes oxidantes, selênio, vitamina A e E e melatonina, além de normalização da termorregulação por meio de duchas frias no sistema reprodutor, o uso de anti-inflamatórios não esteroidais e uma dieta com antioxidante de maneira preventiva. Em garanhões que apresentam problemas relacionados diretamente a morfologia espermática é preciso um prognóstico reservado e diante intervenção do veterinário os problemas podem diminuir ou não, sendo necessário uma nova análise comprovatória após 57 dias, quando se inicia um novo ciclo de espermatogênese (MARQUES; FIDELLIS, 2018).

3.6.1 Semiologia do aparelho reprodutor masculino

O testículo é um órgão reprodutor masculino em forma de ovo, localizados horizontalmente dentro do escroto, cujo tamanho varia de acordo com o animal e sua produção diária de esperma. As funções do testículos são: a produção de hormônios (função endócrina) e produção de espermatozoides (ação exócrina). ((MALSCHITZKY, 2018).

Eles estão no polo cranial do testículo. A cabeça do epidídimo possui células ciliadas que auxiliam na absorção de líquidos, na recuperação motilidade e transporte dos espermatozoides. O corpo se assemelha a uma fita com células baixas, localizado na superfície látero-dorsal do testículo, com a função de absorver fluidos. Eles transportam e amadurecem os espermatozoides, que adquirem a capacidade de fertilizar nesta fase. A cauda do epidídimo está localizada no polo caudal do testículo, que células baixas, não ciliadas e é o principal reservatório de esperma pronto para ejaculação. Durante a passagem do espermatozoide pelo epidídimo, existem algumas características bioquímicas modificadas como condensação da cromatina, troca de fosfolípidios e colesterol, além de alterações na composição das proteínas de superfície da membrana plasmática(FARIAS, 2018).

O epidídimo tem várias funções nos mamíferos, como eliminar a concentração de sêmen reabsorvendo líquidos dos túbulos seminíferos e esperma defeituoso, realizar o transporte, maturação e armazenamento das células. Dependendo da região do epidídimo, é possível correlacionar algumas características morfológicas com propriedades funcionais. A cabeça e o corpo do epidídimo tem a capacidade progressiva de fertilizar enquanto a cauda está associada ao armazenamento de esperma (PEÑA et al, 2019).

3.6.2 Formação do espermatozoide

Quando os espermatozoides saem do testículo, sofrem alterações importantes em sua morfologia. As principais mudanças incluem a capacidade de se ligar à zona pelúcida e no padrão de atividade flagelar. Essas alterações são manifestadas na ligação de lecitina, distribuição intramembranosa de partículas, cargas de superfície celular elétrica, fluidez da membrana, ligação de anticorpos e composição de proteínas e lipídios. Durante o trânsito epididimário, características bioquímicas, como condensação da cromatina, mudanças na composição das proteínas de superfície da membrana plasmática e troca de colesterol e fosfolipídios. A síntese de proteínas e a secreção epididimal ocorrem no lúmen do epidídimo, que são reguladas por andrógenos do testículo, resultando em uma mistura de proteínas do epidídimo que interagem com os espermatozoides presentes no lúmen (SALGADO et al, 2018).

Esses espermatozoides, durante o processo maturação, dependem da sequência de modificações espermáticas resultantes da interação de vários fluidos intraluminais com superfície espermática. Durante o trânsito pelo epidídimo, os espermatozoides também são submetidos a um estresse considerável com alterações na cromatina e no núcleo do espermatozoide. Além disso, a gota citoplasmática migra entre a parte distal do flagelo. A presença de gotículas citoplasmáticas proximais tem uma quantidade considerável nos espermatozoides ejaculados e reflete a imaturidade do animal (RAUBER, 2020).

3.6.3 Ejaculação

A ejaculação consiste em um conjunto de eventos neurofisiológicos sincronizados, culminando em duas fases distintas: emissão e expulsão. A fase de emissão é caracterizada pela liberação de espermatozoides através do ducto

deferente para a uretra pélvica, onde se mistura com o plasma de tecido seminal que é liberado simultaneamente pelas gônadas anexadas. Em garanhões, precede a fase de emissão em cerca de 7 a 9 movimentos intravaginais do pênis que desencadeiam o reflexo de emissão da chave. Esse reflexo causa contrações musculares rítmicas na cauda epidídimo, ducto deferente, ampola, vesícula seminal, próstata e, provavelmente as glândulas bulbouretrais, levando ao relaxamento (CAVALERO, 2018).

Ao mesmo tempo, o esfíncter vesical se contrai e evita o contato com esperma com urina. A expulsão ocorre como resultado de contrações dos músculos estriados pélvicos e músculo perianal associado a contrações rítmicas dos músculos penianos isquiocavernosa, bulbospongia e uretral. A fase de expulsão tem três frações diferentes, de acordo com tipo predominante de secreção. A primeira fração, chamada pré-esperma, vem de fluidos prostáticos sem presença esperma. A segunda fração é caracterizada por uma alta concentração espermatozoides do epidídimo. A terceira fração também chamada de fração gel, vem das vesículas seminais, tem consistência viscosa e poucos espermatozoides remanescentes da segunda fração (SALGADO et al, 2018).

Ao contrário do processo de ereção, existem mecanismos desencadeando a ejaculação ainda não são totalmente compreendidos. As ativações do sistema nervoso autônomo (SNA) e somático são conhecidas por serem essencial para desencadear o processo de ejaculação. Estudos neuroanatômicos em humanos mostram que tanto o sistema nervoso autônomo parassimpático e simpático são importantes na ejaculação. Sobre, entretanto, o envolvimento parassimpático permanece controverso(MURILO; CRUZ, 2019).

3.7 Principais alterações que impedem a ejaculação

3.7.1 *Disfunções que impedem a cópula*

Os distúrbios de se relacionam com a copula se associam ao aparelho reprodutor e possuem origem congênita ou adquirida. As alterações congênitas estão associadas a estenoses, aplasia ou hipoplasia do ducto deferente. Elas podem ser, conforme quadro1 abaixo:

Quadro 1: disfunções da cópula

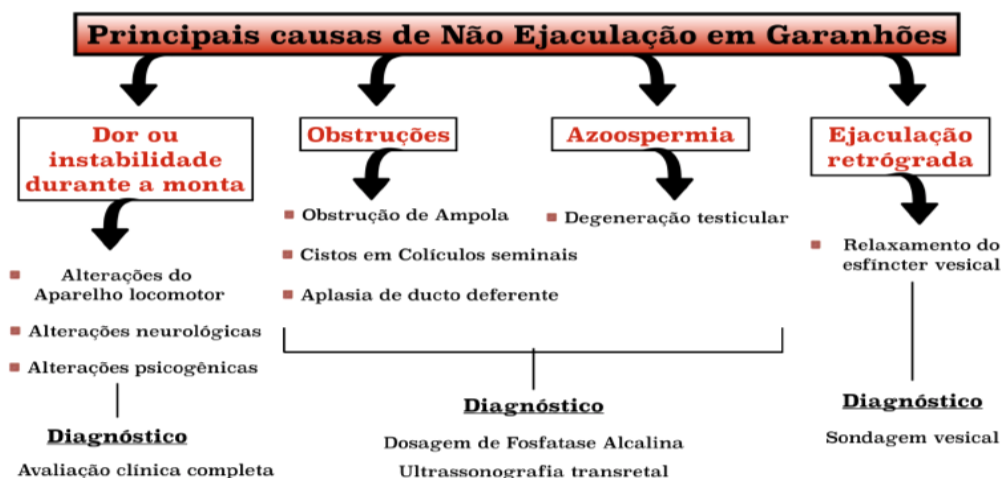
Baixa libido	Distúrbio observado em equinos jovens e inexperientes. Nos garanhões adultos, os calendários de coletas, a degeneração testicular, a sensibilidade dolorosa e ou desconforto na cópula ou doenças podem ocasionar a redução de libido. Para tanto são descritos protocolos farmacológicos que podem inibir a disfunção, atuando na ansiedade do animal.
Disfunção erétil	Disfunção erétil normalmente decorre de algum processo traumático no pênis, como coices, acidentes, priapismo, parafimose, ou ainda lesões de inervação e irrigação pélvica com o trombozes e traumas na medula espinha. Muitos dos equinos com esse tipo de alteração não conseguem desencadear o processo ejaculatório.
Lesões traumáticas em pênis e prepúcio	se não tratadas de maneira adequadas, podem ocasionar aderências penianas e prepuciais associadas a estenoses do osteo prepucial o que impossibilita a exposição peniana, e conseqüentemente a cópula. Os distúrbios na cópula ocorrem por conta de afecções adquiridas ou secundárias, ou ainda lesões irreversíveis onde a vida é interrompida
Distúrbios ejaculatórios	Caracterizados como alterações músculo-esqueléticas e neurológicas, divididas em: não- ejaculação, ejaculação prematura, ejaculação incompleta e urospermia
Obstruções	Observadas na região dos colículos seminais de garanhões em razão dos cistos, com quantidade e tamanho das estruturas císticas que podem ocasionar dificuldade de ejacular

Fonte: Adaptado de RAUBER, 2020

Conforme a figura 5 abaixo algumas das principais causas da não ejaculação nos garanhões:

Figura 5: Não Ejaculação Nos Garanhões

38



Fonte: CAVALERO, 2018

O diagnóstico diferencial entre as causas das alterações da não ejaculação se realiza através da enzima de fosfatase alcalina associada a ultrassonografia transretal das glândulas sexuais anexas. E o diagnóstico de dor ou instabilidade depende de uma avaliação clínica minuciosa (RAUBER, 2020).

3.8 Viabilidade espermática

3.8.1 Coleta do sêmen

A coleta do sêmen em cavalos pode ser realizada por meio de vagina artificial, construída por um tubo cilíndrico recoberto de látex, estimulando manualmente a glândula com compressas terminais, por meio da ejaculação química e pela recuperação de células espermáticas da cauda do epidídimo. A coleta de sêmen é tradicional, e mimetiza os eventos da cópula simulando condições anatômicas e terminas na vagina da égua. A coleta é feita por meio da estimulação do garanhão até o alcance da ereção. Os garanhões aceitam essa técnica de coleta e são condicionados ao manejo, porém são sensíveis a temperatura e pressão da vagina (FARIAS, 2018).

A coleta também pode ser feita de forma fracionada através de três diferentes frações, desde que separados os espermatozoides e a fração gelatinosa, composta por plasma seminal das glândulas sexuais anexas. Agregado a esse método, existe ainda o método alternativo de coleta em vagina artificial que ocorre em estação, onde o animal após excitação permanece em posição quadrupedal e a vagina é introduzida. Essa técnica, no entanto, pode ocasionar a perda de ereção (SALGADO et al, 2018).

Existe ainda a estimulação manual, onde com auxílio de compressas quentes aquecidas em 55 graus no pênis e glândula realiza-se movimentos de estimulação para induzir a ejaculação. Porém, essa técnica tem baixa aceitação, pois, ocasiona alto nível de estresse. Normalmente ela é realizada após orquiectomia e em animais com enfermidade graves. E por fim, se realiza a coleta de sêmen via indução farmacológica, ou seja, com uso de indutores medicamentosos, por meio de preservação do material genético de garanhões que estão impossibilitados de efetuar a monta. Essa coleta é realizada através de um copo coletor acoplado a um tubo cilíndrico que possibilita segurar e manejar o copo coletor à medida que o animal se movimenta (SANCLER-SILVA, 2019).

3.8.2 Análise e exames do sêmen

Para que ocorra a remoção da fração de gel e sujidade do sêmen ejaculado, filtra-se o mesmo, após colheita. A avaliação é iniciada pelos caracteres macroscópicos. O volume ejaculado é expresso em mililitro e varia de acordo com o perfil do garanhão e o método de coleta e tempo de excitação. No método de vagina artificial, os valores fisiológicos são de 40 a 60 ml livre de gel e a coloração pode ser acinzentada, apresentando variações de sangue, pus, urina e sujidades, com aspecto leitoso, e odor específico (SILVA, 2019).

O exame é feito através de uma lâmina e lamínula pré-aquecida mantida a 37°C, onde é colocada uma gota de sêmen, expressa em porcentagem de 0 a 100% para viabilidade espermática de forma subjetiva. Quanto a avaliação objetiva-se utiliza-se o *software computer-assisted sêmen Analyses*, classificando conforme a figura 6 abaixo, por meio de escala de 1 a 5, representando a intensidade do movimento de esperma (NEVES, 2021):

Figura 6: Classificação do vigor da motilidade espermática

Escore	Definição
5	Progressivo retilíneo e muito rápido
4	Progressivo retilíneo rápido
3	Intermediário
2	Lento
1	Exclusivamente oscilatório

Fonte: SILVA, et al, 2019

As avaliações mediatas são realizadas por meio de concentração e morfologia espermática e não necessitam de espermatozoides vivos. O exame morfológico se realiza no mínimo três vezes antes, durante e após a monta. A concentração se refere ao número de espermatozoide por milímetro ou centímetro cúbico e pode ser influenciada por fatores como idade, raça, higidez no testículo e fatores extrínsecos, ou ainda atividade sexual. Para a contagem espermática se realiza a câmara de Neubauer, espectrofotometria ou ainda a contagem computadorizada (SILVA, et al., apud OLIVEIRA 2019).

Para isso é preciso uma diluição de 1:10 de formol-salino, citrato de sódio formulado e água destilada, dependendo do que foi ejaculado. Após a diluição e homogeneização, monta-se a câmara de Neubauer com lamínula específica, para preencher a superfície dos dois lados da câmara em repouso sedimentando as células no fundo e verificando a qualidade espermática (MAZZUCHINI, 2020).

3.9 Manipulação do sêmen

3.9.1 Sêmen fresco

O sêmen natural é colhido e utilizado no próprio local e tem como vantagem a economia. O sêmen é diluído por meio de água, tampões, substâncias não iônicas, açúcares e pode proporcionar pressão osmótica compatível com o espermatozoide. A maioria dos diluidores para equino são constituídos de gema de ovo, leite e derivados. Existem alguns que são comerciais, como: EZ – Mixin® (CST), Max Sêmen® (Agrofarma); Botu-Sêmen® e Botu-Turbo® (Biotech Botucatu) Equimix® (Nutricell) (RODRIGUES, 2019).

3.9.2 Sêmen Resfriado

O sêmen resfriado é diluído em diluentes de açúcares, lipídeos e antibióticos, com temperatura de 5°C e podem ser utilizados até 48 horas depois da colheita sem comprometer a fecundação. Os sistemas de refrigeração em containers, conforme figura 9, são os mais realizados por serem seguros e protegerem a curva de resfriamento lento e ambiente isolando a manutenção da temperatura (LOPES, 2018).

Figura 7: Modelo de container para transporte de sêmen equino refrigerado



Fonte: MELO, 2020

3.9.3 Sêmen Congelado

O sêmen congelado faz uso de diluente próprio para o congelamento e protege a integridade na hora de descongelar, após esse processo, fica armazenado e pode ser conservado em tanque de nitrogênio líquido com uma temperatura de 196°C. Antes do congelamento o sêmen deve ser refrigerado até o momento em que ocorre o

estresse inicial na alteração da permeabilidade dos crioprotetores no meio. Durante isso, ocorre o processo de criopreservação e a suspensão de espermatozoide atinge temperatura abaixo do congelamento do meio, com super resfriamento, formando cristais que são minimizados com as curvas de congelamento. O processo é lento e a temperatura a 5°C permanece promovendo a desnaturação das macromoléculas e encolhimento da célula ocasionando causando colapso da membrana plasmática. O diluidor nesse caso, deverá ser apropriado para o equilíbrio mineral e combinação de nutrientes, neutralizando catabólicos espermáticos e protegendo a temperatura sem oferecer toxicidade ao espermatozoide (DA SILVA, 2020).

É preciso ficar atento a manipulação do sêmen, lembrando sobre as diferenças de temperatura que podem ocasionar lesões nas células, observando também, nesse sentido a quantidade ejaculada que no caso do equino não deve ultrapassar o total de 30%, de esperma cujo padrão é aceitável. Os garanhões que apresentarem porcentagem menores que essa, terão taxas de defeitos elevadas e problemas que interferem na morfologia espermática, sendo, portanto, necessária a intervenção do veterinário para uma nova análise comprobatória (ALMEIDA; DIAS, 2021)

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A fertilidade é uma das características mais importantes no sistema reprodutivo animal. A reprodução quando baseada na qualidade e desempenho representa um ganho econômico para o criador.

Verificou-se então, diante disso que a partir da avaliação morfológica, ou morfologia espermática é possível atingir essa meta, tendo em vista, ser um método capaz de comparar, classificar e identificar os defeitos que possam existir no processo de fertilidade.

Assim, princípios da morfologia e o exame andrológico são instrumentos que permitem identificar a performance do garanhão e deverão ser utilizados pelo médico veterinário para um perfeito reconhecimento da rotina desse animal, desde a clínica básica ao processamento de coleta do sêmen, higienização do pênis até os métodos de análise dos espermatozoides a fim de possibilitar a reprodução do animal, identificando falhas e defeitos morfológicos que possam gerar potros doentes geneticamente, ocasionando impacto econômico aos reprodutores.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Coelho, de Rogéria Werner; DIAS, Júlio César Oliveira. Congelação de sêmen equino após 24 horas de resfriamento. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 1, p. e1831019939-e1831019939, 2021.

ARROJA, Maria Raquel Lameira Serralha de Matos. Estudo comparativo da eficácia da administração da hormona gonadotrofina coriônica humana (hCG) e da triptorrelina como agentes indutores da ovulação em éguas em Portugal. 2022. **Dissertação de Mestrado. Universidade de Évora.** Disponível em: https://lume.ufrgs.br/handle/10183/181412?locale-attribute=pt_BR Acesso em 07 de novembro de 2022.

BERGAMO, Karina Ivana et al. Influência da orquiectomia na avaliação ultrassonográfica das glândulas anexas de equinos. **Rev. Bras. Reprod. Anim**, v. 44, n. 4, p. 135-142, 2020. Disponível em: <http://cbra.org.br/portal/downloads/publicacoes/rbra/v44/n4/RB846%20Gonzalez%20p135-142.pdf> Acesso em 07 de novembro de 2022.

BETTENCOURT, E. M. V.; ANTUNES, L.; GONÇALVES, A. R.; BRANCO, S.; ROCHA, A. **Reprodução em equinos: Manual Prático.** 2018. Disponível em: <https://dspace.uevora.pt/rdpc/handle/10174/26399>. Acesso em: 26 set. 2022.

BUENO, Verônica La Cruz; DE ARAUJO BASTOS, Henrique Boll; RECHSTEINER, Sandra Fiala. Biomarcadores da fisiologia reprodutiva em equinos. **Rev Bras Reprod Anim**, v. 45, n. 2, p. 58-66, 2021. Disponível em: <http://cbra.org.br/portal/downloads/publicacoes/rbra/v45/n2/RB895%20Bueno%20p58-66.pdf> Acesso em 02 de dez de 2022.

BARROS, Helber Araújo. Importância do exame andrológico associado a morfologia espermática: revisão de literatura. **Centro Universitário do Planalto Central Aparecido dos Santos.** 2021. Disponível em: <https://dspace.uniceplac.edu.br/handle/123456789/1816> 2022. Acesso em: 26 set. 2022.

CHAGAS, Amanda Ribeiro. **Análise Descritiva da Maturação Espermática em Potros (Equus Caballus).** Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/331922021>. Acesso em: 26 set. 2022.

CARNEIRO, Gustavo Ferrer. Foliculogênese na égua. In: Congresso Reprolab de Reprodução Equina, 1., 2018, Porto Alegre. **Anais eletrônicos** [...] Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2018b. p. 19 - 27. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/187280/001084152.pdf?sequence=1>. Acesso em: 10 mai. 2022.

CAVALERO, Thaís Mendes Sanches. **Novos protocolos utilizando associações com ocitocina na indução farmacológica da ejaculação em garanhões.** 2018. Disponível em: <https://www.seer.ufrgs.br/ActaScientiaeVeterinariae/article/view/88217>. Acesso em 02 de dez de 2022

CAMARGO, Giovana Siqueira. **Sexagem e acondicionamento de embriões equinos pré-implantacionais produzidos in vivo**. 2022. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/237429>. Acesso em 01 de dez de 2022

CUERVO-ARANGO, Juan. Aspectos práticos na avaliação do corpo lúteo. In: Congresso Reprolab de Reprodução Equina, 1., 2018, Porto Alegre. **Anais eletrônicos** [...] Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2018. p. 10 - 18. Disponível em: <<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/187280/001084152.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 10 mai. 2022.

HENRIQUES, Catarina Barbosa de Bettencourt Correia; CORRÊA, Ávila. **Criopreservação de espermatozoides epididimários em equinos: comparação entre dois métodos**. 2019. Tese de Doutorado. Universidade de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária. Disponível em: <https://www.repository.utl.pt/handle/10400.5/18259> Acesso em 02 de dez de 2022.

MURILLO, Katherine Castro; CRUZ, Santiago González. **Métodos modernos de evaluación seminal em equinos**. Disponível em: http://repository.ucc.edu.co/bitstream/20.500.12494/12318/1/2019_metodos_modernos_evaluacion.pdf Acesso em 02 de dez de 2022

RODRIGUES, Lorryne de Oliveira. **Avaliação morfológica de embriões equinos e sua correlação com a taxa de prenhez no município de Rolim de Moura, RO**. 2019. Disponível em: <https://ri.unir.br/jspui/handle/123456789/2866> acesso em 02 de dez de 2022.

SILVA Oliveira, Valquíria; da MORELLI, Karine Galhego; COUTINHO, Giancarlo Thadeu Ramos Montalvão. Princípios básicos da manipulação, análise, e envio do sêmen equino. **PubVet**, v. 13, p. 176, 2019. Disponível em: <https://www.pubvet.com.br/artigo/6379/principiacutepios-baacutesicos-da-manipulaccedilatildeo-anaacutelise-e-envio-do-secircmen-equino> Acesso em 07 de novembro de 2022

DA SILVA, L.; FREITAS LOPES, G.; ADOLFO MARQUES, G.; PAZ MOURO, F.; DUTRA DE SOUZA, R.; PIRES NEVES, A. Promovendo o ensino e a aprendizagem de equinocultura e reprodução animal no curso de zootecnia. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 11, n. 1, 14 fev. 2020.

FERNANDES, Jéssica Laura Cipriano. Estudo Comparativo da qualidade de sêmen criopreservado, obtido de epidídimo de cavalos sujeitos a prévia castração química. **Tese de Doutorado**. 2022. Disponível em: <https://comum.rcaap.pt/handle/10400.26/40314>. Acesso em 02 de dez de 2022.

FARRÁS, Marcel Cavalcanti. Avaliação da fragmentação do DNA espermático de sêmen refrigerado de garanhões. 2012. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/98144>. Acesso em 02 de dez de 2022.

FARIAS, Lidia Dutra. **Adição de ácido docosahexaenóico (DHA) e ácido eicosanóico (EPA) em meio diluente na criopreservação de sêmen de garanhões da raça crioula**. 2018. Disponível https://lume.ufrgs.br/handle/10183/181412?locale-attribute=pt_BR Acesso em 07 de novembro de 2022

GALVÃO, M. C. B.; RICARTE, I. L. M. Revisão sistemática da literatura: conceituação, produção e publicação. **Logeion: Filosofia da Informação**, [S. l.], v. 6, n. 1, p. 57–73, 2019. DOI: 10.21728/logeion.2019v6n1.p57-73. Disponível em: <https://revista.ibict.br/fiinf/article/view/4835>. Acesso em: 13 set. 2022.

FRANCO, Ludimila et al. Anatomia, histologia e imunohistoquímica do órgão vomeronasal de embriões e fetos equinos. **Resumos**, 2019. Disponível em: https://scholar.google.com.br/scholar?hl=pt-BR&as_sdt=0%2C5&as_ylo=2018&q=+Anatomia%2C+histologia+e+imunohistoqu%C3%ADmica+do+%C3%B3rg%C3%A3o+vomeronasal+de+embri%C3%B5es+e+feto+s+equinos.+Resumos%2C+2019.&btnG= Acesso em 02 de dez de 2022.

GONZÁLEZ, Félix HD. Introdução a endocrinologia reprodutiva veterinária. **Porto Alegre: UFRGS**, v. 83, 2002. Disponível em: https://www.ufrgs.br/lacvet/site/wp-content/uploads/2017/05/endocrino_rep_vet.pdf. Acesso em 02 de dez de 2022.

SANGUINET, Eduardo de Oliveira. **Sobrevivência in vitro de sêmen criopreservado equino e de ruminantes após indução à capacitação espermática e da reação acrossômica para aplicação na produção in vitro de embriões**. 2020. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/212524> Acesso em 02 de dez de 2022.

SANTOS, Allan Gledson Ferreira dos et al. **Aspectos clínico-andrológicos de criadores de equinos submetidos à ultrassonografia doppler no Estado da Paraíba**. 2018. Disponível em: https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/15414?locale=pt_BR Acesso em 02 de dez de 2022.

LOPES, Vagner Miranda. **Avaliação da viabilidade espermática do sêmen equino resfriado a 5° C por 36 horas de garanhões alojados no município de Rolim de Moura–RO**. 2018. Disponível em: <https://www.ri.unir.br/jspui/handle/123456789/2745> Acesso em 07 de novembro de 2022

MORAIS, R. C. L. et al. Ultrassonografia testicular no modo color Doppler/espectral e avaliação andrológica de garanhões tratados com gonadotrofina coriônica humana (hCG) em diferentes estações do ano. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 72, p. 1137-1144, 2020.

MARQUES, Karine Zargidsky; FIDELIS, Andrei Antonioni Guedes. Influência do método de separação espermática na qualidade do sêmen equino resfriado. **Programa de Iniciação Científica-PIC/UniCEUB-Relatórios de Pesquisa**, v. 4, n. 1, 2018. Disponível em <https://www.rel.uniceub.br/pic/article/view/6383>. Acesso em 02 de dez de 2022

MAITAN, Paula Piccolo. **Eventos fisiológicos e bioquímicos relacionados a capacitação espermática de garanhões em condições in vitro**. 2020. Disponível em: https://sucupira.capes.gov.br/sucupira/public/consultas/coleta/trabalhoConclusao/viewTrabalhoConclusao.jsf?popup=true&id_trabalho=10013644 Acesso em 05 de out de 2022.

MELO, Cinthya Mércya Alves de. **Desenvolvimento de software para gestão reprodutiva equina: inseminação artificial e transferência de embriões**. 2020. Disponível em: <https://ud10.arapiraca.ufal.br/repositorio/publicacoes/3686> Acesso em 14 de out de 2022.

MACIEL, Juliana Torriani. **Sincronização da onda ovulatória por meio de aspiração folicular e tratamento com o GnRH**. Orientador: Marcelo Bertolini. 2020. 95 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2020.

MALSCHITZKY, Eduardo. Seleção da doadora na eficiência reprodutiva. In: Congresso Reprolab de Reprodução Equina, 1., 2018, Porto Alegre. **Anais eletrônicos** [...] Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2018. p. 45 - 52. Disponível em: <<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/187280/001084152.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 10 mai. 2022.

NEVES, J. K. B. F.; ZANIN, G. M.; NEVES, K. A. L.; REBELO, L. S.; BATISTA, H. R.; SILVA, W. C. da; CAMARGO JÚNIOR, R. N. C. Utilização da Transferência de Embrião em equinos no município de Mojuí dos Campos, no Baixo Amazonas, Pará. **Conjecturas**, [S. l.], v. 21, n. 4, p. 825–833, 2021. DOI: 10.53660/CONJ-324-519. Disponível em: <<http://conjecturas.org/index.php/edicoes/article/view/324>>. Acesso em: 23 mar. 2022.

OLIVEIRA, Sidnei Nunes de. **Efeito do glicerol e amidas em diferentes curvas de refrigeração sobre a qualidade do sêmen congelado equino**. 2020. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11362/46444> Acesso em: 28 set. 2022.

OLIVEIRA, V. S.; MORELLI, K. G.; COUTINHO, G. T. R. M. Princípios básicos da manipulação, análise, e envio do sêmen equino. **PUBVET**, v. 13, p. 176, 2019. Disponível em: <https://www.pubvet.com.br/artigo/6379/principios-basicos-da-manipulacao-analise-e-envio-do-semem-equino>. Acesso em 01 de dez de 2022.

PAUL, Leonardo Glaeser. Características seminais pós-descongelamento em garanhões da raça crioula. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v.44, n.3, p.100-107, jul./set. 2020. Disponível em <http://www.cbra.org.br/portal/downloads/publicacoes/rbra/v44/n3/RB844%20Bueno%20diagramacao%20final%20com%20DOI.pdf>. Acesso em: 28 set. 2022.

PEÑA, Fernando; GAZZO, Eduardo; CHUNG, Arturo; ESCUDERO, Ernesto. Primer embarazo en América Latina utilizando la técnica Piezo-ICSI: reporte de caso. **Rev Peru Ginecol Obstet**. v. 65, n. 2, p.179-182, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.31403/rpgo.v65i2171>>. Acesso em: 10 mai. 2022.

RIBEIRO, Ariane Avelar. **Aspectos gerais das boas práticas na criação de equinos**. 2020. Disponível em: <https://repositorio.pucgoias.edu.br/jspui/bitstream/123456789/905/1/ARIANE%20TC%20FINALL.pdf>. Acesso em 02 de dez de 2022.

RAUBER, Orestes Henrique. **Relatório de estágio curricular obrigatório: área de reprodução equina**. 2020. Disponível em:

<https://repositorio.ucs.br/xmlui/handle/11338/6863> Acesso em 07 de novembro de 2022.

SILVA, Deborah Freitas; MONTEIRO, Gabriel Augusto. Ultrassonografia Doppler aplicada ao diagnóstico de distúrbios testiculares em garanhões. **Veterinária e Zootecnia**, v. 27, p. 1-17, 2020. Disponível em: <http://cbra.org.br/portal/downloads/publicacoes/rbra/v46/n2/RB1021%20Sancler-Silva%20p.117-129.pdf>. Acesso em 05 de out de 2022.

SANTOS, Allan Gledson Ferreira dos et al. **Aspectos clínico-andrológicos de reprodutores da espécie equina submetidos a ultrassonografia doppler no Estado da Paraíba**. 2018. Trabalho de Conclusão do Curso, apresentado a Universidade Federal da Paraíba. Disponível em: <https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/15414> Acesso em: 13 set. 2022.

SANTA, Ália Diana Henriques Barbosa. **Manejo reprodutivo em equinos**. 2019. Tese de Doutorado. Disponível: https://comum.rcaap.pt/bitstream/10400.26/34878/1/Tese%20mestrado_Alia%20Santa_MEAP.pdf Acesso em: 14 out 2022.

SANCLER-SILVA, Yamê Fabres Robaina; MONTEIRO, Gabriel Augusto. Tecnologias para criopreservação de sêmen em equinos. **Anais da**, p. 85. Disponível em: https://abraa.org.br/wp-content/themes/wallstreet/files/anais_4_reuniao.pdf#page=852019 acesso em 02 de dez de 2022.

SALES, Felipe Augusto Boudoux Martins. **Avaliação in vitro e in vivo do sêmen equino submetido a diferentes tratamentos após a descongelação**. 2020. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/vtt-220792> acesso em 02 de dez de 2022.