



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA**

PALOMA ELEUTÉRIO BEZERRA

**VIABILIDADE DO SÊMEN DE OVINOS MORADA NOVA BRANCA
CONSERVADO EM TRIS-GEMA NAS ÉPOCAS SECA E CHUVOSA**

FORTALEZA

2017

PALOMA ELEUTÉRIO BEZERRA

VIABILIDADE DO SÊMEN DE OVINOS MORADA NOVA BRANCA CONSERVADO
EM TRIS-GEMA NAS ÉPOCAS SECA E CHUVOSA

Monografia apresentada ao curso de Agronomia, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal, do Ceará, como requisito parcial, para obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Cláudia Nascimento Campos.

FORTALEZA

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

B469v Bezerra, Paloma Eleutério.
Viabilidade do sêmen de ovinos Morada Nova branca conservado em tris-gema nas épocas seca e chuvosa / Paloma Eleutério Bezerra. – 2017.
38 f.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, , Fortaleza, 2017.
Orientação: Profa. Dra. Ana Cláudia Nascimento Campos.

1. Características seminais. 2. Machos. 3. Ovinos. 4. Plasma seminal. 5. Sangue. I. Título.

CDD

PALOMA ELEUTÉRIO BEZERRA

**VIABILIDADE DO SÊMEN DE OVINOS MORADA NOVA BRANCA
CONSERVADO EM TRIS-GEMA NAS ÉPOCAS SECA E CHUVOSA**

Monografia apresentada ao curso de Agronomia,
Centro de Ciências Agrárias da Universidade
Federal, do Ceará, como requisito parcial, para
obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Aprovada em/...../.....

BANCA EXAMINADORA

Prof^o Dra. Ana Cláudia Nascimento Campos (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^o Dra. Carla Renata Figueiredo Gadelha
Universidade Federal do Ceará (UFC)

MSc. Dayanne Lima de Sousa
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

A Tânia, Lourdes, Valéria e Lucilda.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus, por sempre me dar a mão e carregar em seu colo, em todos os momentos de dificuldade desta, nossa tão árdua, caminhada vital.

À minha família, composta de mulheres guerreiras, todas grandes mães, que se dedicaram e incentivaram a que eu construísse um bom caráter, em especial, Maria de Lourdes, Valéria, Lucilda e Dayse Bezerra.

À mulher que me ensinou sobre o amor incondicional, mãe biológica, Tânia Maria Eleutério Bezerra, que se sacrifica para manter qualquer brisa de felicidade nos meus dias.

Ao meu avô, João Alves Bezerra, que me adotou como sua filha legítima, e foi o melhor modelo de homem, de bom caráter e honesto, e que infelizmente, não se encontra mais nesse plano.

À minha orientadora, Ana Cláudia Nascimento Campos, a quem admiro muitíssimo, me acolheu com carinho e auxiliou sempre da melhor forma, depositando confiança e respeito.

Ao meu orientador da disciplina de estágio obrigatório, Breno Magalhães Freitas, pelo respeito, auxílio e confiança depositada neste período.

À minha co-orientadora, Carla Renata Figueiredo Gadelha, por todo carinho, orientação, respeito e amizade.

À Dayanne Lima de Sousa pelo convite aceito, amizade e confiança depositada.

Ao Professor Luciano Pinheiro, por todos os auxílios a realização do trabalho.

Ao meu namorado Ícaro Vasconcelos do Nascimento, por todos os momentos maravilhosos, companheirismo, carinho e amor.

Aos meus amigos, do Laboratório de Estudos em Reprodução Animal e zootecnia, que me alegraram e deram força nos momentos de dificuldade, em especial, Judite, Ana Carolina, Bárbara, Artur, Saulo, Ingrid, Eloísa, Hiara, Jardeson, Dhones, Caio, Vitória, Gadiel e Samuel e João Paulo.

À Mariana Maia Bezerra, irmã que não tive, por todos os anos de amizade, ensinamentos e carinho incondicional.

Aos animais utilizados no experimento, e todos os outros animais, que passaram por minha vida, me ensinando sobre o amor verdadeiro.

A todas as pessoas especiais que não foram citadas, mas, que possuem um espaço cheio de carinho em meu coração.

RESUMO

O objetivo desse estudo foi averiguar se há diferença na viabilidade do sêmen e nas características bioquímicas do sangue e plasma seminal, entre as épocas seca e chuvosa. O experimento foi realizado no Laboratório de Estudos em Reprodução Animal do Departamento de Zootecnia- UFC. Foram utilizados cinco ovinos da raça Morada Nova variedade Branca, alojados em baias individuais, manejados sob condições intensivas e alimentados conforme a categoria animal e espécie. Os diluidores seminais utilizados foram o TRIS e TRIS-gema de ovo. As amostras de sêmen e sangue foram coletadas semanalmente, durante as épocas chuvosa e seca. Foram obtidos dois ejaculados do mesmo animal, com o objetivo de adquirir um maior volume de sêmen. As amostras seminais obtidas foram avaliadas quanto ao volume (ml) e concentração espermática ($\times 10^9$ spz/ ml) e em seguida, divididas em duas alíquotas: (i) A primeira alíquota, imediatamente centrifugada para a obtenção do plasma seminal e analisada quanto as concentrações de proteínas totais, albumina, globulina e frutose (ii) A segunda alíquota, diluída no diluidor TRIS e TRIS-gema a uma concentração final de 400×10^6 spz /mL. Após a diluição, uma amostra de 300 μ l de sêmen foi submetida ao teste de termorresistência (TTR) para avaliação subjetiva da motilidade e vigor. O restante do sêmen diluído foi resfriado por 24 h e novamente submetido ao TTR, para avaliação subjetiva da motilidade e vigor. Esfregaços de sêmen das amostras frescas e conservadas foram realizados ao final do TTR para conhecimento das possíveis alterações morfológicas. Os esfregaços foram corados com solução azul de bromofenol e 200 células analisadas em cada lâmina. As amostras de sangue foram analisadas quanto às concentrações de proteínas totais, albumina, globulina, beta hidroxibutirato e glicose. Os dados obtidos foram analisados pelo programa estatístico SAS 9.1. Os resultados deste experimento sugerem que não houve diferença significativa, para a maioria dos parâmetros de viabilidade do sêmen entre os períodos seco e chuvoso, com melhores valores do volume no período seco, que se deve em parte, a maior adaptabilidade desses ovinos da variedade Morada Nova às condições de aridez do Nordeste do Brasil. Quanto às características do sangue, obteve-se significância para os parâmetros glicose e globulina, apresentando melhores resultados no período seco.

Palavras – Chave: Características seminais. Machos. Ovinos. Plasma seminal. Sangue.

ABSTRACT

The aim of this study was to determine if there is a difference in semen viability and biochemical characteristics of blood and seminal plasma, between dry and rainy seasons. The experiment was carried out at the Animal Reproduction Studies Laboratory of the Department of Animal Science - UFC. Five sheep of the breed Morada Nova variety Branca were used, housed in individual bays, managed under intensive conditions and fed according to the animal category and species. The seminal diluents used were TRIS and TRIS-egg yolk. Samples of semen and blood were collected weekly during rainy and dry seasons. Two ejaculates of the same animal were obtained, with the purpose of acquiring a larger volume of semen. The seminal samples obtained were evaluated for volume (ml) and sperm concentration ($\times 10^9$ spz / ml) and then divided into two aliquots: (i) The first aliquot, immediately centrifuged to obtain seminal plasma and analyzed for concentrations of (ii) The second aliquot, diluted in the TRIS and TRIS-yolk diluent at a final concentration of 400×10^6 spz / mL. After dilution, a 300 μ l sample of semen was submitted to the thermoresistance test (TTR) for subjective evaluation of motility and vigor. The remainder of the diluted semen was cooled for 24 h and again submitted to TTR, for subjective evaluation of motility and vigor. Semen smears from the fresh and preserved samples were performed at the end of the TTR for knowledge of possible morphological changes. The smears were stained with blue bromophenol solution and 200 cells analyzed on each slide. Blood samples were analyzed for total protein, albumin, globulin, beta hydroxybutyrate and glucose concentrations. The data obtained were analyzed by the statistical program SAS 9.1. The results of this experiment suggest that there was no significant difference for the majority of semen viability parameters between the dry and rainy periods, with better volume values in the dry period, due in part to the greater adaptability of these sheep of the variety Morada New to aridity conditions in northeastern Brazil. Regarding blood characteristics, the glucose and globulin parameters were obtained, showing better results in the dry period.

Key words: Seminal characteristics. Males. Sheep. Seminal plasma. Blood.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1. Avaliação da qualidade do sêmen.....	14
2.2. Motilidade e vigor	15
2.3. Concentração, volume, aparência e movimento em massa	16
2.4. Morfologia espermática.....	17
2.5. Indicadores bioquímicos do sangue e reprodução	18
3. MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1. Local do experimento e animais experimentais	20
3.4. Morfologia espermática.....	21
3.5. Coleta de Sangue e Análises Bioquímicas.....	21
3.6. Análise estatística	22
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
5. CONCLUSÃO.....	30
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31

1. INTRODUÇÃO

Os ovinos da raça Morada Nova constituem uma das principais raças nativas de ovinos deslanados criados do Nordeste do Brasil (VILLARROEL & FERNANDES, 2000). São animais caracterizados por boa prolificidade, rusticidade e são bem adaptados às condições edafo-climáticas do semiárido, desempenhando importante função social e econômica, fornecendo proteína de qualidade e renda adicional às populações rurais (SILVA SOBRINHO, 2006).

O efetivo ovino brasileiro dessa raça vem reduzindo de tamanho a cada ano, visto que muitos criadores têm optado pela criação de genótipos mais produtivos. Existe ainda a ocorrência de cruzamentos indiscriminados com ovinos de raças exóticas, que vêm pondo em risco a preservação dessa raça na região (PAIVA et al., 2005; FACÓ et al., 2008).

No semi-árido nordestino, os eventos climatológicos podem ser definidos em dois: época seca e chuvosa. Estas delimitações estacionais determinam a disponibilidade de alimento, o que influencia diretamente na capacidade reprodutiva (SIMPLICIO, 2001). Sabe-se que a reprodução é fator determinante para a eficiência dos sistemas de produção, sendo necessária a garantia de animais saudáveis. Desta maneira, a utilização de indicadores quantitativos e qualitativos do sêmen, além da avaliação metabólica do sangue desses animais é uma ferramenta satisfatória para a avaliação de rebanhos, atuando como auxílio no diagnóstico de doenças e prevenindo possíveis prejuízos na produção (PEIXOTO & OZORIO, 2007; GRANADOS, 2006).

A inseminação artificial é uma prática amplamente utilizada na reprodução animal, no entanto, requer condições específicas de estocagem do sêmen. O transporte de sêmen de um carneiro de qualidade superior de uma fazenda para fazendas distantes, a fim de inseminar um grande número de ovelhas, exige a preservação do sêmen em condições artificiais (KASIMANICKAM et al., 2007). O sêmen é armazenado em estado líquido ou sólido a baixas temperaturas (4 ou 15 °C) ou em estado congelado (-196 °C) (MAXWELL e SALAMON, 1993; SALAMON e MAXWELL, 2000; YANIZ et al., 2005). A preservação bem sucedida do sêmen é conseguida por métodos que reduzem ou prender o

metabolismo dos espermatozóides sem prejudicar sua fertilidade (MAXWELL e SALAMON, 1993). Diversos diluentes têm sido testados e o uso da gema de ovo como aditivo vem sendo disseminado, visto que promove a redução de danos à célula espermática durante processos de resfriamento e congelação (FONSECA et al., 2014).

Diante do exposto, partiu-se das seguintes hipóteses: as características seminais e bioquímicas do sêmen de ovinos Morada Nova Branca variam entre as épocas seca e chuvosa; as características seminais no diluidor Tris diferem após a adição ou não da gema de ovo; as características seminais diferem entre os tempos de conservação fresco e 24 horas; e a época do ano influencia na composição bioquímica do sangue de ovinos. Assim, objetivou-se com este trabalho verificar se fatores como as épocas do ano, tempo de conservação e adição de gema de ovo no diluidor interferem nas características qualitativas e quantitativas seminais e se a época do ano influencia na composição bioquímica do plasma seminal e do sangue de ovinos deslanados Morada Nova Branca.

2. REVISÃO DE LITERATURA

No Brasil, a inseminação artificial (IA) utilizando sêmen conservado na espécie ovina é uma prática pouco disseminada, principalmente porque a ovinocultura brasileira é essencialmente extrativista. Além disso, IA intravaginal com sêmen congelado ainda apresenta resultados insatisfatórios, porque os espermatozóides depositados encontram dificuldade em ultrapassar a cérvix devido ao maior número de anéis cervicais. Desse modo, nessa espécie, torna-se necessário a deposição do sêmen no corno uterino pela técnica de laparoscopia, tornando IA muito laboriosa e onerosa. Por outro lado, a IA com sêmen fresco ou refrigerado, é uma alternativa viável e simples, pois o mesmo pode ser depositado na entrada da cérvix.

Diante do exposto, é necessária a difusão de programas que vise o progresso reprodutivo entre os rebanhos nacionais de ovinos. O estudo da conservação do sêmen resfriado torna-se relevante para a evolução e padronização das técnicas de IA e também para determinar a capacidade reprodutiva do macho.

O método mais eficiente para se determinar a capacidade reprodutiva de um reprodutor é verificando sua potencialidade de fertilizar fêmeas férteis (GRANADOS, 2006). Entretanto, é possível estimar essa potencialidade por meio de teste *in vitro* que apresentam diferentes acurácias (HAFEZ, 1995).

2.1. Avaliação da qualidade do sêmen

O método ideal para avaliar a fertilidade do reprodutor, além de sua habilidade de produzir a gestação, é pelo exame do sêmen (HAFEZ, 1995). A avaliação da qualidade espermática geralmente está ligada ao desejo de predizer a fertilidade dos reprodutores para servirem nos rebanhos ou para serem utilizados em programas de reprodução programada (Manual Para Exame Andrológico e Avaliação De Sêmen Animal, 1998).

Por quase um século ou mais, clínicos e pesquisadores têm lutado para desenvolver técnicas para predizer acuradamente a fertilidade das amostras seminais de um indivíduo (AMANN e HAMMERSTEDT, 1993). DEN DAAS (1992) e HAFEZ (1995) citam que as características do sêmen relacionadas à qualidade da população espermática

presente na dose inseminante são motilidade (teste de termorresistência), integridade da membrana, integridade acrossômica, atividade de certas enzimas, concentração espermática, volume e aspecto do sêmen, movimento em massa (turbilhamento), morfologia espermática, habilidade de ligar-se à zona pelúcida do oócito e capacidade para fecundação *in vitro*. Nenhum teste único foi desenvolvido para prever acuradamente a fertilidade de um ejaculado individualmente, mas quando vários testes são combinados cuidadosamente, os ejaculados podem ser selecionados para utilização com potencial de apresentar a mais alta fertilidade (HAFEZ, 1995).

As características do sêmen são avaliadas não somente para predição da fertilidade do macho, mas também para avaliar o modo de processamento do ejaculado no laboratório (CAMPOS et al., 2004; DEN DAAS, 1992). Um método confiante de mensuração do volume e concentração do ejaculado é tão importante quanto às características da qualidade do sêmen, especialmente para a preparação das doses inseminantes (DEN DAAS, 1992). Em ovinos, uma redução no volume de sêmen, após submissão a um regime de coleta frequente, indica uma redução da função secretora das glândulas anexas (KAYA et al., 2002) e redução da reserva epididimária (MONTEIRO et al., 2014).

2.2. Motilidade e vigor

A motilidade e o vigor podem ser analisados de forma objetiva ou subjetiva. A análise objetiva é realizada pelo Computer-assisted semen analysis – CASA. Este sistema inclui um microscópio de contraste de fase equipado com placa aquecedora, conectado a uma vídeo-câmera de alta resolução e um computador (MATOS et al., 2008). Entretanto este sistema requer grande investimento.

O método subjetivo consiste na utilização do teste de Teste de Termorresistência. Por esta metodologia, a motilidade e o vigor são rotineiramente avaliados pela estimativa visual (DEN DAAS, 1992). Segundo CORTEEL (1981), estes são os parâmetros mais comumente utilizados para mensurar a qualidade do sêmen. O vigor ou intensidade de movimentação linear dos espermatozoides é avaliada em um escore de 0 – 5, onde zero corresponde à ausência de espermatozoides móveis e cinco à máxima

movimentação progressiva (CORTEEL, 1974; 1981). Os espermatozoides precisam de várias horas após a ejaculação ou IA para atingirem o local de fecundação na fêmea (HAFEZ, 1995). Seu poder fecundante está consequentemente, em parte ligado à sua sobrevivência no trato genital da fêmea (MIES FILHO, 1987). Esta observação tem levado a utilização de testes de termorresistência à mesma temperatura corpórea da fêmea, *in vitro* para apreciar a sobrevivência espermática. As condições de incubação variam com a espécie e com o tipo de sêmen a testar (fresco ou congelado), mas em caprinos e ovinos, o sêmen é geralmente diluído em concentração compreendida entre 80 e 300 x 10⁶sptz/ml, e colocado em banho-maria à 37 – 38°C (Manual para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal, 1998). A motilidade e o vigor podem ser calculadas ao início do teste e 2 – 3 horas após a incubação (BARIL et al., 1993).

2.3. Concentração, volume, aparência e movimento em massa

O sêmen deve possuir uma aparência cremosa ou leitosa, com cor amarelada (marfim), ou esbranquiçada nas espécies caprina e ovina (Manual para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal, 1998), que são indicativos de alta concentração espermática. Geralmente, animais jovens e aqueles de menor tamanho dentro de uma espécie produzem menores valores de sêmen (HAFEZ, 1995). Normalmente, o volume do ejaculado varia de acordo com a espécie animal considerada e, dentro de uma mesma espécie, a variação é muito ampla, correndo por conta do indivíduo, da raça, do número de ejaculações sucessivas, a alimentação etc (MIES FILHO, 1987). Frequentes ejaculações resultam em menor volume, e quando dois ejaculados são obtidos consecutivamente, o segundo usualmente apresenta menor volume (HAFEZ, 1995; KAYA et al., 2002). Volumes pequenos não são prejudiciais, porém são acompanhados por baixa concentração espermática, e o número de espermatozoides disponíveis é limitado (HAFEZ, 1995).

Segundo o Manual para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal (1998), o volume médio do sêmen ovino é em torno de 1 ml, porem estudos tem revelado que as características seminais, tais como, o volume de sêmen, concentração, vigor, motilidade e morfologia espermática pode variam em função da raça e época do ano (FELICIANO SILVA e NUNES, 1984; GÜNDOGAN, 2006; SABEV et al., 2006).

Estudos realizados no Rio Grande do Sul demonstraram que a época do ano afetou significativamente a percentagem de espermatozoides anormais e em menor grau, o volume e concentração espermática, quando os animais são mantidos em pastagem natural, indicando que esta deficiência deve-se ao manejo alimentar e não ao fotoperíodo (SELAIVE-VILLARROEL et al., 1985). Já no Piauí, em ovinos da Raça Santa Inês, manejados com pastagem nativa, foi constatado limitação do crescimento, porém sem afetar os parâmetros seminais, libido e concentração sérica de testosterona (SOUZA et al., 2007).

Macroscopicamente, o exame do sêmen puro contra a luz poderá fornecer elementos valiosos no que diz respeito à motilidade, quando ele provém de ruminantes. O movimento em massa é classificado de acordo com sua intensidade em ativo, médio e lento (MIES FILHO, 1987), ou com notas que variam de 0 a 5 (BARIL et al., 1993). Quando um número muito pequeno de espermatozoides se movimenta no meio da massa, o material aparece ao exame visual como se estivesse completamente imóvel, portanto os elementos em atividade não têm a força suficiente para movimentar a totalidade dos existentes (MIES FILHO, 1987).

2.4. Morfologia espermática

O sêmen da maioria dos machos apresenta alguns espermatozóides anormalmente formados (HAFEZ, 1995). Nesse aspecto, a morfologia espermática tem sido identificada como uma das técnicas que podem ser usadas na predição da fertilidade espermática, (BUENDÍA et al., 2002), assim a avaliação da qualidade do sêmen tem que considerar que a competência funcional é determinada por vários fatores. A avaliação do estado morfológico e motilidade do espermatozóide é indicação crucial de sua capacidade fertilizante (BLOTTNER et al., 2001). A morfologia espermática, especialmente da cabeça, tem recebido considerável atenção em relação à habilidade do espermatozóide em alcançar uma fertilidade normal (AZIZ et al., 1998). Em caprinos o índice de anormalidade máxima permitida que não interfira na fertilidade é 20% (Manual para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal, 1998).

As alterações morfológicas do espermatozóide podem atingir as diversas partes constituintes como, por exemplo, o acrossomo, núcleo, colo, peça intermediária, flagelo, e em alguns casos, tomar duas ou mais partes da célula simultaneamente (MIES FILHO, 1987). Estas alterações morfológicas dos espermatozóides podem ser primárias, secundárias ou terciárias (HAFEZ, 1995). As anormalidades primárias são devido à falha da espermatogênese, enquanto que as secundárias ocorrem durante a passagem pelos epidídimos, àquelas que ocorrem durante ou após a ejaculação são designadas anormalidades terciárias (HAFEZ, 1995).

Em clima temperado, a estacionalidade reprodutiva em pequenos ruminantes é influenciada pela variação anual do fotoperíodo (ROSA e BRYANT, 2003; BUDAI et al., 2013). No entanto, outros fatores ambientais (temperatura, nutrição e relações sociais) parecem modular seu efeito (IBRAHIM, 1997). Em clima tropical, estudos recentes têm observado variações nas características do sêmen desses animais (CAMPOS et al., 2004; CATUNDA et al., 2011; AGUIAR et al., 2013; FRAZÃO SOBRINHO et al., 2014), apesar da inexistência de variação do fotoperíodo. Sugerindo que outros fatores, tais nutricionais e ambientais podem ter interferência direta ou indireta sobre o eixo hipotálamo-hipofisário-gonádico (MARTIN et al., 2004).

2.5. Indicadores bioquímicos do sangue e reprodução

A avaliação do perfil metabólico ligada ao status nutricional e desempenho reprodutivo tem despertado o interesse atualmente. A nutrição tem papel definitivo no desempenho reprodutivo animal, podendo causar problemas, como o déficit qualitativo dos gametas sexuais, caso não seja realizada de forma coerente, suprimindo as necessidades nutritivas de cada fase animal. É importante frisar que este conhecimento pode ser utilizado como mantenedor ou gerador de eficiências reprodutivas satisfatórias, através de manejos voltados para este intuito (PEIXOTO & OSÓRIO, 2007; PIRES, 2011; ROBINSON et al, 2002; BOMFIM et al, 2014)

Os metabólitos sanguíneos, protéicos e energéticos, são indicadores nutritivos e conseqüentemente, reprodutivos, portanto, valores de glicose, proteínas totais, albumina, globulina e corpos cetônicos, por exemplo, são capazes de informar a respeito da qualidade

produtiva animal, pois desequilíbrios destes repercutem na composição dos fluidos corporais. (CONTRERAS, 1990). São capazes de variar, não tão somente por meio do manejo nutritivo, mas por fatores como idade, stress, clima e estado fisiológico.

Resumidamente, é possível destacar a interferência de alguns destes indicadores, tais como, proteínas plasmáticas, que são fundamentais em processos que incluem o transporte de hormônios e nutrientes, já a disponibilidade de glicose utilizável interfere diretamente na liberação de GnRH pelo hipotálamo. Níveis altos de corpos cetônicos no sangue são capazes de provocar perdas rápidas de condição corporal e deficiência de Co em ruminantes. (GONZALEZ, 2003; PIRES et al., 2011).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local do experimento e animais experimentais

O experimento foi realizado no Laboratório de Estudos em Reprodução Animal (LERA) do Departamento de Zootecnia- UFC. Foram utilizados cinco ovinos saudáveis da raça Morada Nova variedade Branca, com aproximadamente 12 meses de idade e peso médio de 30 kg, alojados em baias individuais, previamente vacinados e vermifugados, que foram manejados sob condições intensivas. A alimentação fornecida aos animais foi elaborada na proporção de 60% de volumoso e 40% de concentrado, conforme especificações do NRC (2007) para ovinos. A mistura mineral foi adicionada ao concentrado e a água fornecida livremente. O volumoso fornecido foi o feno de capim Tifton 85 (*Cynodondactylum*).

3.2. Elaboração do diluidor TRIS

O diluidor utilizado foi o TRIS (3,63 g de TRIS, 0,50 g de frutose, 1,99 g de ácido cítrico, para 100 ml de água destilada). A osmolaridade do diluidor proporcionou 300 milliosmoles e pH entre 6,2 a 6,8. Após a elaboração dividiu-se em duas partes iguais, uma delas constituiu o grupo controle (Tris sem gema) e a outra foi adicionada de gema de ovo a uma concentração de 2,5%.

3.3. Coleta e processamento do sêmen

Os ejaculados foram coletados semanalmente com auxílio de uma vagina artificial, durante as épocas seca e chuvosa. Para cada coleta foram obtidos dois ejaculados do mesmo animal, com intervalo de 15 minutos entre as coletas, com o objetivo de adquirir um maior volume de sêmen. Após a mistura dos dois ejaculados do mesmo animal, a amostra foi avaliada quanto ao volume (ml), concentração espermática ($\times 10^9$ sptz/ ml) e motilidade massal, sendo em seguida dividida em duas alíquotas:

i) A primeira alíquota foi imediatamente centrifugada a 8.000 rpm/20 min para a obtenção do plasma seminal, que foi acondicionado em tubos tipo “*ependorfs*” e

conservados a -20°C até a realização das análises de proteínas totais, albumina, globulina, glicose e frutose

ii) A segunda alíquota foi diluída no diluidores TRIS com e sem gema de ovo (EVANS e MAXWELL, 1990), a uma concentração final de 400×10^6 sptz /mL. Após as diluições, amostras de 300 µl sêmen foram incubadas em banho-maria a 37 °C para a realização do teste de termorresistência (TTR), aos 10 e 120 min para avaliação subjetiva da motilidade e o vigor (BARIL et al., 1993). O restante do sêmen diluído foi resfriado por 24 h e foi novamente submetido ao TTR e avaliação subjetiva da motilidade e o vigor.

As observações foram realizadas em microscopia ótica no aumento de 100X. Após cada incubação foram calculadas as médias de vigor e motilidade. A taxa de degradação da motilidade (TDM) foi calculada pela seguinte fórmula:

$$\text{TDM} = \frac{\text{vigor 10 min} - \text{vigor 120 min}}{\text{vigor 10 min}}$$

3.4. Morfologia espermática

Foram realizados esfregaços de sêmen das amostras frescas e conservadas de cada animal no TRIS com e sem gema, foram realizados aos 120 minutos de incubação a 37°C, para conhecimento das possíveis alterações morfológicas típicas (sêmen fresco), bem como, daquelas provocadas pela conservação do sêmen. Os esfregaços foram corados com solução azul de bromofenol. Um total de 200 células por lâmina foi analisado em um microscópio óptico (aumento: X1000). A morfologia espermática foi classificada segundo Bloom (1980).

3.5. Coleta de Sangue e Análises Bioquímicas

As amostras de sangue dos animais foram coletadas semanalmente por venopunção jugular. Foram realizadas sete repetições no período seco e sete no período chuvoso, totalizando 70 amostras (35 no período seco e 35 no período chuvoso). Para cada coleta realizada, foram utilizados dois tubos por animal (10 mL), um com anticoagulante (EDTA a 10%), para a obtenção do plasma sanguíneo e posterior análise dos níveis de

glicose, e outro sem anticoagulante, para obtenção do soro, possibilitando a medição dos metabólitos β -hidroxibutirato, proteínas totais, albumina e globulina. Os tubos foram centrifugados a 1000 rpm por 15 minutos, e as amostras de soro e plasma armazenadas em freezer a -20°C para posterior análise.

As análises de glicose, proteínas totais, albumina e globulina no plasma seminal e/ou sangue foram realizadas por meio de kit comerciais. O β -hidroxibutirato foi determinado no aparelho PrecisionXtrem, AbbottLaboratories Inc., Abbott Park, IL (LITHERLAND et al., 2013). A frutose foi determinada pelo método de Selliwanoff.

3.6. Análise estatística

Os parâmetros analisados foram expressos em média e desvio padrão e avaliados pela ANOVA, utilizando-se o modelo GLM (General Linear Model). Em seguida, submetidos ao teste de Tukey, utilizando-se um delineamento em parcelas subdivididas, ao nível de significância de 1%. Os dados foram analisados pelo programa estatístico SAS 9.1 (2003).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesse estudo foi verificado que apenas o volume de sêmen foi afetado pela época do ano ($p < 0,0001$), com maiores valores na época seca (Tabela 1).

Tabela 1. Média do Volume, Concentração, Motilidade Massal (M.M), Motilidade, Vigor, Taxa de Degradação da Motilidade (TDM), Morfologia de Células Normais e Células Defeituosas do sêmen nas épocas seca e chuvosa.

Parâmetro seminal	Época do ano	
	Chuvosa	Seca
Volume (ml)	0,47±0,02 ^b	0,800,03 ^a
Concentração espermática ($\times 10^9$ spz/ml)	3,82±0,08 ^a	4,04±0,02 ^a
M.M	2,87±0,07 ^a	2,73±0,09 ^a
Motilidade (%)	29,34±2,37 ^a	33,30±2,37 ^a
Vigor	1,46±0,11 ^a	1,39±0,11 ^a
TDM (%)	27,47±2,88 ^a	20,64±2,52 ^a
Normal (n° spz)	143,33±3,16 ^a	148,58±2,02 ^a
Defeituosas (n° spz)	56,66±2,56 ^a	51,41±2,02 ^a

^{ab} Letras diferentes, comparação entre épocas seca e chuvosa $p < 0,0001$

Poucos relatos foram encontrados acerca da influência da época do ano sobre as características seminais de ovinos criados em condições tropicais (FRAZÃO SOBRINHO et al., 2014). Estes autores verificaram influencia da época do ano sobre os parâmetros espermáticos, todavia, diferente do experimento atual, cujo maior volume de sêmen foi constatado na época seca. Os resultados do presente estudo diferiram dos relatos encontrados em caprinos (CATUNDA et al., 2011; AGUIAR et al., 2013), pois não verificaram influencia da época do ano sobre o volume de sêmen. Similarmente, também não constataram influencia época do ano sobre o vigor e a motilidade espermática. Desse modo, ovinos deslanados, quando adequadamente alimentados, aparentam estar bem adaptados às condições ambientais da região nordeste brasileira, pois a qualidade seminal é pouco influenciados pela época do ano (MAIA et al., 2011).

No atual estudo, apesar da época do ano não ter afetado negativamente a qualidade seminal dos ovinos Morada Nova Branca, a motilidade, vigor e morfologia espermática estão fora dos índices recomendados pelo CBRA (1998), que são 75%; 3,0 e 10%, respectivamente, o que desqualifica os ejaculados obtidos. Tais resultados podem comprometer a capacidade fecundante do sêmen dos reprodutores estudados. Todavia, uma amostra mais significativa precisa ser estudada para que dados mais conclusivos sejam obtidos.

Os parâmetros bioquímicos no plasma seminal e sanguíneos estão apresentados na tabela 2.

Tabela 2. Média dos parâmetros bioquímicos no plasma seminal e sanguíneo dos ovinos.

Época	Plasma seminal					
	Proteínas Totais*	Albumina*	Globulinas*	Frutose**	Glicose**	BHB
Chuvosa	3,30±0,07 ^a	2,03±0,09 ^a	1,37±0,09 ^b	458,20± 11,93 ^a	-	-
Seca	3,20±0,05 ^a	0,40±0,08 ^b	2,80±0,08 ^a	264,83± 11,93 ^b	-	-
Época	Plasma sanguíneo					
	Proteínas Totais*	Albumina*	Globulinas*	Frutose**	Glicose**	BHB
Chuvosa	4,45± 0,09 ^b	3,11± 0,04 ^a	1,34± 0,08 ^b	-	100,77±0,99 ^a	2,80± 0,19 ^a
Seca	5,48± 0,09 ^a	3,01± 0,04 ^a	2,47± 0,08 ^a	-	93,35±0,99 ^b	2,77± 0,19 ^a

^{ab} Letras diferentes, comparação entre épocas seca e chuvosa $p < 0.0001$. *g/100 ml, **mg/100 ml

O plasma seminal de mamífero é a parte líquida da ejaculação, que é composta por secreções de testículos, epidídimos, ducto deferente e fluido das glândulas acessórias masculinas (MOGIELNICKA-BRZOZOWSKA e KORDAN, 2011). De modo que a sua função está normalmente associada à ejaculação dos espermatozoides e à subsequente sobrevivência dos mesmos no trato reprodutivo feminino (JUYENA e STELLETTA, 2012). No atual experimento, no plasma seminal, as maiores concentrações de albumina e frutose ($p < 0.0001$) foram encontradas na época chuvosa, porém as globulinas foram maiores na época seca. As concentrações de proteínas totais ($p > 0,05$) não foram influenciadas pela época do ano, mas encontram-se dentro do relatado para a espécie (DOMINGUEZ et al., 2008; GUNDOGAN, 2006). No homem, a albumina tem origem testicular, epididimária e prostática e está associada com a morfologia espermática

(ELZANATY et al., 2007) e tem sido encontrada comumente no sêmen dos animais domésticos (OBERST et al., 2002). Em ovinos, maiores concentrações de albumina no plasma seminal têm sido associadas com melhor motilidade espermática (GUNDOGAN, 2006).

No que se refere à frutose, resultados similares foram encontrados por Catunda et al. (2012), que em caprinos, também verificou maiores concentrações desse metabólito na época chuvosa. Os autores sugeriram que a alteração na concentração de frutose observada durante o estudo pode ser atribuído a algum efeito ambiental, tal como a temperatura e umidade que interferiram na fisiologia reprodutiva masculina. A frutose apresenta-se como um importante constituinte seminal no metabolismo espermático, cuja concentração tem sido associada à qualidade do sêmen, à atividade metabólica e ao funcionamento normal das glândulas vesiculares (LEWIS-JONES et al., 1996). Portanto, o conhecimento da concentração de frutose seminal é importante para determinar a estação adequada para preservar e usar o sêmen de pequenos ruminantes (CATUNDA et al., 2012). A maior concentração de globulinas encontrada na época seca é atribuída a menor concentração de albumina que foi observada nessa mesma época. Maiores concentrações de globulinas têm sido relatadas com o período reprodutivo em veados (STREZEK et al., 1985). Entretanto no presente estudo a razão desse aumento não parece óbvia.

As concentrações de proteínas totais e globulinas séricas foram mais elevadas na época seca ($p < 0,01$), e glicose na época chuvosa ($p < 0,01$). As concentrações de proteínas totais e globulinas, em ambas as épocas do ano, estavam abaixo dos parâmetros fisiológicos recomendados por Kaneko et al. (2008) cuja variação é de 6,0 - 7,9 g/dl e 3,5 - 5,7 g/dl para proteínas totais e globulinas, respectivamente. Dessa forma, os valores encontrados apontam um quadro sugestivo de hipoproteinemia e hipoglobulinemia crônicas, visto que estes parâmetros estavam baixos em ambas as épocas do ano. Entretanto, os animais não apresentaram nenhum sintoma de doença infecciosa, parasitária ou metabólica durante a condução do experimento. Como hipoglobulinemia é um achado incomum no animal adulto (RUSSEL & ROUSSEL, 2007; AHMAD et al., 2000), e nenhuma doença foi diagnosticada, acredita-se que esses valores sejam típicos da raça,

entretanto mais estudos devem ser realizados, visto que restam poucos exemplares desse grupo genéticos no Brasil.

Em ovinos, somente pequenas quantidades de amido chegam ao abomaso ou duodeno (6% do amido ingerido), mesmo que se alimentem com grandes quantidades de amido (TOPPS *et al.*, 1968). De fato, o amido é rapidamente fermentado no rúmen originando principalmente o propionato (FORBES & PROVENZ, 2000), que via gliconeogênese hepática origina a glicose (TOPPS *et al.*, 1968). A glicose é a fonte de energia para o organismo e sua concentração varia entre os animais (KANEKO *et al.*, 2008). Nesse estudo, a concentração de glicose foi maior na época chuvosa, apesar disso, em ambas as épocas, as concentrações estavam acima dos limites fisiológicos para a espécie ovina (50,0 a 80,0 mg/dl; KANEKO *et al.*, 2008). Os resultados encontrados sugerem que o fornecimento energético da ração estava acima do recomendado para a espécie resultando em maiores concentrações séricas de glicose (CATUNDA *et al.*, 2013; SUSIN *et al.*, 1995).

Nos ruminantes, o β -hidroxibutirato, deriva do metabolismo hepático do acetil-CoA e, principalmente, a partir da transformação do butirato na parede ruminal (VANDERMEERSCHEN-DOIZÉ *et al.*, 1983). No presente estudo, as concentrações de β HB não diferiram entre as épocas do ano, porém em ambas as épocas, as concentrações deste metabólito estavam abaixo dos valores propostos em ovelhas lanadas (5,33 a 6,17 mg/dl; KANEKO *et al.*, 2008). Estes resultados indicam que produção de energia, a partir do acetato ruminal, está ocorrendo eficientemente no animal. Os baixos valores encontrados também podem ser inerentes aos ovinos Morada Nova Branca, uma vez que esse genótipo é escasso e necessita de estudos.

O tempo de conservação influenciou negativamente a viabilidade das células espermáticas ($p < 0,0001$), com os melhores resultados sendo encontrados no sêmen fresco (tabela 3).

Tabela 3. Média das variáveis Vigor, Motilidade, Morfologia de Células Normais e Células Defeituosas, entre os tempos de conservação Fresco e 24 horas após as coletas de sêmen nos dois períodos

Tempo de Conservação	Vigor (1-5)	Motilidade (%)	Normal (n)	Defeituosas (n)
Fresco	2,56±0,07 ^a	55,57±1,58 ^a	159,28±1,80 ^a	40,71±1,80 ^a
24h	0,28±0,04 ^b	7,07±0,57 ^b	132,31±2,78 ^b	67,68±2,27 ^b

^{ab} Letras diferentes, comparação entre tempos de conservação $p < 0.0001$

A eficiência da conservação do sêmen no estado líquido por períodos curtos depende da redução reversível da motilidade e da atividade metabólica dos espermatozóides em baixas temperaturas (MAXWELL e SALAMON, 1993; MACHADO e SIMPLÍCIO, 1995). Pois, a criopreservação induz danos na ultraestrutura da membrana plasmática e acrossômica, bem como na região flagelar, que promovem redução da integridade funcional e da sobrevivência espermática (CAVALCANTE et al., 2014; SALAMON e MAXWELL, 2000). A qualidade inicial dos ejaculados (vigor e número de espermatozóides defeituosos) durante todo o experimento esteve aquém do recomendado pelo CBRA (1998), o que em parte justifica os resultados encontrados no sêmen resfriado, visto que as células espermáticas dos ovinos Morada Nova Branca não toleraram o processo de resfriamento a 5°C. Mais estudos necessitam ser conduzidos com ovinos Morada Nova Branca, pois não há relatos publicados acerca da qualidade seminal dessa raça, outro entrave aos estudos é a existência de apenas três núcleos com esse rebanho no Ceará.

Na época chuvosa, a adição de gema ao diluidor Tris influenciou positivamente na motilidade, o número de células normais e defeituosas ($p < 0,001$). Na época seca influenciou a motilidade e a TDM ($p < 0,001$), os melhores valores sendo encontrados no Tris com gema. O número de células normais variou entre as épocas no Tris sem gema ($p < 0,001$), com o melhor resultado sendo observado na época seca.

Tabela 4. Média das variáveis Vigor, Motilidade, Taxa de Degradação da Motilidade (TDM), Morfologia de Células Normais e Células Defeituosas, entre os diluidores Tris-com gema (TCG) e Tris-sem gema (TSG) nas épocas chuvosa e seca.

Diluidor	Época Chuvosa				
	Vigor	Motilidade (%)	TDM (%)	Normais (n)	Defeituosas (n)
TCG	1,49±0,15 ^a	33,52±3,55 ^a	29,93±4,46 ^a	148,06±5,26 ^a	51,93±3,55 ^a
TSG	1,42±0,17 ^a	25,16±3,09 ^b	25,00±3,65 ^a	138,88±3,56 ^{bb}	61,11±3,56 ^b
Diluidor	Época Seca				
	Vigor	Motilidade (%)	TDM (%)	Normais (n)	Defeituosas (n)
TCG	1,51±0,16 ^a	36,82±3,51 ^a	25,82±4,00 ^a	146,91±2,96 ^a	53,08±2,96 ^a
TSG	1,26±0,16 ^a	29,78±3,15 ^b	14,44±2,98 ^b	150,24±2,75 ^{aA}	49,75±2,75 ^a

^{A,B} Letras diferentes, comparação entre épocas seca e chuvosa $p < 0,001$; ^{a,b} letras minúsculas comparação entre tratamentos. Taxa de Degradação da Motilidade (TDM).

A utilização do diluidor formulado a partir da gema de ovo é viável para a preservação do sêmen ovino e provém de um diluidor formulado com finalidade para a congelação do sêmen bovino (DAVIS et al., 1963). Apesar dos resultados não promissores encontrados nesse experimento, o diluidor Tris-gema é o diluidor de eleição para a conservação do sêmen ovino resfriado ou congelado (EVANS & MAXWELL, 1990; PAULENZ et al., 2002). O uso de sêmen resfriado tem vantagens práticas e econômicas: é barato, fácil de manusear e pode ser usado para inseminação cervical (YÁNIZ et al., 2005). Então, recomenda-se continuidade dos estudos com conservação do sêmen no estado líquido nessa raça, pois a recomendação em ovinos é o uso de 7,5 - 20% de gema de ovo no diluidor (EVANS e MAXWELL, 1990; KULAKSIZ et al., 2010), todavia, no Brasil tem-se usado menor percentual (2,5 a 3%) com excelentes resultados de conservação e fertilidade (MACHADO et al., 2006).

Na época chuvosa, o maior número de células normais foi encontrado no TCG e com espermatozóides defeituosos no TSG ($p < 0,001$). Alguns estudos indicam que a fração lipoprotéica de baixa densidade da gema de ovo é a fonte comum de proteção do espermatozóide ovino contra os efeitos do armazenamento a +5°C (WATSON & MARTIN, 1975). Os fosfolipídios da fração lipoprotéica da gema de ovo favorecem a proteção da membrana da célula espermática (WATSON, 1981). Já a proteína da fração lipoprotéica da gema de ovo serve para solubilizar o lipídio e ligá-lo à membrana da célula (WATSON,

1981). Mais recentemente, MOUSSA et al. (2002) demonstraram que a fração lipoprotéica da gema de ovo possui efetiva propriedade crioprotetora sobre os espermatozoides congelados-descongelados de touros, pois melhora motilidade espermática foi obtida com a adição da gema de ovo. Essas informações justificam os resultados encontrados nesse experimento. Diferença entre as épocas foi encontrada no diluidor TSG, com maior número de espermatozoides normais sendo observado na época seca ($p < 0,001$). Os resultados sugerem que durante a época seca, as baixas concentrações de frutose e albumina seminal tenham contribuído para diminuição da sobrevivência espermática e conseqüentemente, menor taxa de dano célula durante a conservação, o que provavelmente cooperou para aumentar o número de células intactas. Afinal, certo grau de células é danificado durante a fase de resfriamento (CURRY & WATSON, 1994).

5. CONCLUSÃO

A época do ano tem pouca influencia sobre as características seminais, porém há influencia na composição bioquímica do plasma seminal e soro sanguíneo dos ovinos Morada Nova Branca.

O resfriamento do sêmen reduz a viabilidade das células espermáticas de ovinos Morada Nova Branca.

A adição de gema de ovo demonstrou-se importante para melhorar as características de conservação do sêmen ovino resfriado.

Mais estudos são necessários para seleção de reprodutores com melhores qualidades seminais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOAGLA, Eiman M.-E.; TERADA, T. Effects of egg yolk during the freezing step of cryopreservation on the viability of goat spermatozoa. **Theriogenology**, v. 62, n. 6, p. 1160-1172, 2004.

AGUIAR, G. V. et al. Sperm parameters and biochemical components of goat seminal plasma in the rainy and dry seasons in the Brazilian Northeast: the season's influence on the cooling of semen. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n. 1, p. 6-12, 2013.

AMANN, R. P.; HAMMERSTEDT, R. H. In vitro evaluation of sperm quality: an opinion. **Journal of Andrology**, v. 14, n. 6, p. 397-406, 1993.

BARIL, Gérard; CHEMINEAU, Philippe; COGNIE, Yves. **Manuel de formation pour l'insémination artificielle chez les ovins et les caprins**. Food & Agriculture Org., 1993.

BOMFIM, M. A. D., ALBUQUERQUE, F.H. M. & SOUSA, R. T. 2014. Papel da nutrição na reprodução ovina. In: **Acta Veterinaria Brasilica**, v.8, Supl. 2, p. 372-379.

BUDAI, I.; OLÁH, J.; EGERZEGI, I.; JAVOR, A.; ROVÁCS, A.; Seasonal variations in some reproductive parameters of dorper rams in Hungary. **Agrártudományi Közlemények**, 2013/53.

BUENDIA, P. et al. Morphometric characterization and classification of alpaca sperm heads using the Sperm-Class Analyzer® computer-assisted system. **Theriogenology**, v. 57, n. 4, p. 1207-1218, 2002.

CAMPOS, Ana Cláudia Nascimento et al. Viabilidade do sêmen caprino lavado e não lavado diluído em água de coco, resfriado e armazenado a 4oC. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 11, n. 3, 2004.

CARDOSO, Janaina de Fátima Saraiva et al. Diferentes concentrações de gema de ovo na qualidade do sêmen canino diluído em ACP®-106 e resfriado a 4 C. **Comunicata Scientiae**, v. 1, n. 2, p. 146, 2010.

CAVALCANTE, José Maurício Maciel et al . Criopreservação do sêmen ovino em meio diluente à base de água de coco em pó (ACP-102c). **Ciênc. anim. bras.**, Goiânia , v. 15, n. 3, p. 344-353, set. 2014 .

CATUNDA, A.G.V. et al. Blood leptin, insulin and glucose concentrations in hair sheep raised in a tropical climate. *Small Ruminant Research*, v. 114, p.272–279, 2013.

CATUNDA, Ana Gláudia Vasconcelos. **Avaliação dos parâmetros fisiológicos, metabólicos e reprodutivos de ovelhas deslanadas submetidas à suplementação energética criadas em sistema semi-intensivo no nordeste do Brasil**. 2011. Tese de Doutorado.

CONTRERAS, P. A. et al. Concentraciones sanguíneas de glucosa, colesterol, cuerpos cetónicos y actividad de aspartato aminotransferasa en ovejas con gestación única y gemelar en pastoreo rotacional intensivo. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v. 22, n. 1, p. 65, 1990.

CORTEEL, J.-M.; BARIL, G. Viabilité des spermatozoïdes de bouc conservés et congelés avec ou sans leur plasma séminal: effet du glucose. In: **Annales de Biologie Animale Biochimie Biophysique**. EDP Sciences, 1974. p. 741-745.

CORTEEL, J-M. Collection, processing and artificial insemination of goat semen. Nouzilly – France: INRA, 28p. 1981.

DA FONSECA, Jeferson Ferreira et al. **Bioteecnologias Aplicadas à Reprodução de Ovinos e Caprinos**, EMBRAPA, 2014.

DE OLIVEIRA PEIXOTO, Luiz Antero; OSÓRIO, Maria Teresa Moreira. Perfil metabólico proteico e energético na avaliação do desempenho reprodutivo em ruminantes. **Revista brasileira de agrociencia**, v. 13, n. 3, p. 299-304, 2007.

DE REPRODUÇÃO ANIMAL, Colégio Brasileiro (Ed.). **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. CBRA, 1998.

DELLMAN, H.D.; BROWN, E. M. Histologia Veterinária. Rio de Janeiro, Koogan. 396p. 1982.

DEN DAAS, N. J. H. G. Laboratory assessment of semen characteristics. **Animal Reproduction Science**, v. 28, n. 1-4, p. 87-94, 1992.

DOMINGUEZ, M. P. et al. Seasonal variations in the composition of ram seminal plasma and its effect on frozen-thawed ram sperm. **Theriogenology**, v. 69, n. 5, p. 564-573, 2008.

ELZANATY, Saad; ERENPREISS, Juris; BECKER, Charlotte. Seminal plasma albumin: origin and relation to the male reproductive parameters. **Andrologia**, v. 39, n. 2, p. 60-65, 2007.

EVANS, G. ;MAXWELL, W.M.C. Semen y sus características. **Inseminación artificial de ovejas y cabras**. Zaragoza: Editorial Acribia, pp 25. 1990.

FACÓ, O. et al. Morada Nova: Origem, Características e Perspectivas. **Documento**, v. 75, p. 43, 2008.

SILVA, A. E. D. F.; NUNES, J. F. Estacionalidade na atividade sexual e qualidade do sêmen nos ovinos deslanados das raças Santa Inês e Somalis brasileira. **EMBRAPA-CNPQ. Boletim de Pesquisa**, 1987.

FERNANDES, Antônio Amaury Oriá; BUCHANAN, David; SELAIVE-VILLARROEL, Arturo Bernardo. Avaliação dos fatores ambientais no desenvolvimento corporal de cordeiros deslanados da raça Morada Nova. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 5, p. 1460-1465, 2001.

FRAZÃO SOBRINHO, J. M. et al. Characteristics of the semen of Dorper, Santa Ines and undefined breed sheep, pre-and post-freezing, in the rainy and dry period. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 4, p. 969-976, 2014.

GRANADOS, L. B. C.; DIAS, A. J. B.; SALES, M. P. Aspectos gerais da reprodução de caprinos e ovinos. **Luis Bernabe Castillo Granados, Ângelo José Burla Dias e Monique Pessanha de Sales.–1º ed. Campos dos Goytacazes–Projeto PROEX/UENF**, 2006.

GONZÁLEZ, Felix H. Díaz; SCHEFFER, Jean LFS. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. **Simpósio de Patologia Clínica Veterinária (1.; 2003, Porto Alegre)**, 2003.

GONZÁLEZ, Félix H. Díaz; SILVA, SC da. Introdução à bioquímica clínica veterinária. **Porto Alegre: UFRGS**, 2006.

GÜNDOĞAN, MUSTAFA. Some reproductive parameters and seminal plasma constituents in relation to season in Akkaraman and Awassi rams. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v. 30, n. 1, p. 95-100, 2006.

HAFEZ, Elsayed Saad Eldin; HAFEZ, B. Reprodução animal. **Reprodução animal**, 1995.
HAMAMAH, S. **Évolution des caractéristiques membranaires desspermatozoïdes em relation avecle développement dansl'épididyme de leur capacité a reconnaîtrela zone pellucide: étude chez lebelier**. Montpellier: Université des Sciences et Techniques du Languédoc, 1983. 50p. Tese. (Ciências Agronômicas).

IBRAHIM, Saleh A. Seasonal variations in semen quality of local and crossbred rams raised in the United Arab Emirates. **Animal reproduction science**, v. 49, n. 2, p. 161-167, 1997.

JUYENA, Nasrin S.; STELLETTA, Calogero. Seminal plasma: an essential attribute to spermatozoa. **Journal of andrology**, v. 33, n. 4, p. 536-551, 2012.

KAYA, A.; AKSOY, M.; TEKELI, T. Influence of ejaculation frequency on sperm characteristics, ionic composition and enzymatic activity of seminal plasma in rams. **Small Ruminant Research**, v. 44, n. 2, p. 153-158, 2002.

LEWIS-JONES, D. I. et al. Andrology: Effects of sperm activity on zinc and fructose concentrations in seminal plasma. **Human reproduction**, v. 11, n. 11, p. 2465-2467, 1996.

LITHERLAND, N. B. et al. Effects of prepartum controlled-energy wheat straw and grass hay diets supplemented with starch or sugar on periparturient dairy cow performance and lipid metabolism. **Journal of dairy science**, v. 96, n. 5, p. 3050-3063, 2013.

LÓPEZ-GATIUS, F. et al. Walking activity at estrus and subsequent fertility in dairy cows. **Theriogenology**, v. 63, n. 5, p. 1419-1429, 2005.

MACHADO, R.; SIMPLICIO, A. A. Inseminação artificial em caprinos no Brasil: estágio atual. In: **Embrapa Caprinos e Ovinos-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v. 19, n. 1/2, p. 61-72, 1995., 1995.

MAIA, M. da S.; MEDEIROS, I. M.; LIMA, C. A. C. Características reprodutivas de carneiros no Nordeste do Brasil: parâmetros seminais. **Revista Brasileira de Reprodução Animal, Belo Horizonte**, v. 35, n. 2, p. 175-179, 2011.

MARTIN, G. B.; RODGER, J.; BLACHE, D. Nutritional and environmental effects on reproduction in small ruminants. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 16, n. 4, p. 491-501, 2004.

MATOS, D. L. et al. Análise computarizada de espermatozoides: revisão de literatura. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 32, n. 4, p. 225-232, 2008.

MAXWELL, W. M.; SALAMON, S. Liquid storage of ram semen: a review. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 5, n. 6, p. 613-638, 1993.

MIES FILHO, A. Reprodução dos animais. Porto Alegre, Sulina. 6 ed. v. 1, 314 p, 1987. MOGIELNICKA-BRZOZOWSKA, M.; KORDAN, W. Characteristics of selected seminal plasma proteins and their application in the improvement of the reproductive processes in mammals. **Polish journal of veterinary sciences**, v. 14, n. 3, p. 489-499, 2011.

MONTEIRO, Alexandre Weick Uchoa et al. Biometria Testículo-Epididimária e a Reserva Espermática Epididimária de Ovinos Sem Padrão Racial Definido. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 8, n. 1, p. 81-98, 2014.

NUNES, J. F. **Etude des effets du plasma seminal sur la survie" in vitro" des spermatozoides de bouc**. Universite Pierre et Marie Curie, 1982.

NÚÑEZ, Quiterio. Morfología del tracto genital de los pequeños rumiantes. **Revista Científica**, Luz, v. 3, n. 2, p. 77- 86, 1993.

OBERST, Ender Rosana et al. Imunoidentification of Albumin and Osteopontin in Seminal Plasma of Taurine and Zebuine Bulls. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 23, n. 1, p. 21-28, 2002.

O'HARA, L.; HANRAHAN, J. P.; RICHARDSON, L.; DONOVAN, A.; FAIR, S.; EVANS, A. C. O.; LONERGAN, P. Effects of storage duration, storage temperature, and diluent on the viability and fertility of fresh ram sperm. **Theriogenology**, v. 73, p. 541-549, 2010.

PAIVA, Samuel Rezende et al. Genetic variability of the Brazilian hair sheep breeds. **Pesquisa agropecuaria brasileira**, v. 40, n. 9, p. 887-893, 2005.

PIRES, A. V.; RIBEIRO, C. V.; MENDES, C. Q. Aspectos nutricionais relacionados à reprodução. **BERCHIELLI, TT; PIRES, AV; OLIVEIRA, SG Nutrição de Ruminantes. Jaboticabal: FUNEP**, p. 537-559, 2011.

ROBINSON, J. J. et al. Nutrition for conception and pregnancy. **Sheep nutrition'. Vol.1. (Eds M Freer, H Dove) pp**, Canberra, p. 189-211, 2002.

ROSA, H. J. D.; BRYANT, M. J. Seasonality of reproduction in sheep. **Small Ruminant Research**, v. 48, n. 3, p. 155-171, 2003.

SABEV, Milko et al. Cryopreservation of ram sperm from autochthonous breeds during a non-mating season. **Journal of Central European Agriculture**, v. 7, n. 4, p. 677-682, 2007.

SALAMON, S.; MAXWELL, W. M. C. Storage of ram semen. **Animal reproduction science**, v. 62, n. 1, p. 77-111, 2000.

SILVA SOBRINHO, A.G. *Criação de ovinos*. 3ed. Jaboticabal: FUNEP. 2006. 302 p.

SIMPLÍCIO, Aurino Alves et al. Manejo reprodutivo de caprinos e ovinos de corte em regiões tropicais. **Embrapa Caprinos. Documentos**, 2001.

SINGH, M. P.; SINHA, S. N.; SINGH, B. Studies on preservation of buck semen. *Indian Veterinary Medicine Journal*, v. 6, p. 123 – 130, 1982.

SOUZA, José Adalmir Torres et al. Biometria testicular, características seminais, libido e concentração de testosterona em ovinos da raça Santa Inês, criados a campo, na microrregião de Campo Maior, Piauí. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, v. 10, n. 1, p. 21-28, 2007.

STREZEK, J.; KRZYWINSKI, A.; SWIDOWICKS, K. Seasonal changes in the chemical composition of red deer (*Cervus elaphus*) semen. In: *Animal Reproduction Science*, vol. 9, p. 195 –204, 1985.

SUSIN, I.; LOERCH, S. C.; MCCLURE, K. E. Effects of feeding a high-grain diet at a restricted intake on lactation performance and rebreeding of ewes. **Journal of animal science**, v. 73, n. 11, p. 3199-3205, 1995.

THIBAUT, Charles; LEVASSEUR, Marie-Claire. **La reproduction chez les mammifères et l'homme**. Editions Quae, 2001.

VILELLA, L.C.V.; LÔBO, R.N.B.; SILVA, F.L.R. O material genético disponível no Brasil. In: Campos ACN. *Do campus para o campo: tecnologias para produção de ovinos e caprinos*. Fortaleza: Gráfica Nacional, 2005, p.215-225.

VILLARROEL, Arturo Bernardo; FERNANDES, Antonio Amaury Oriá. Desempenho reprodutivo de ovelhas deslanadas Morada Nova no Estado do Ceará. **Revista Científica de Produção Animal**, v. 2, n. 1, 2000.