

ANSELMO DOMINGOS FERREIRA SANTOS

**CARACTERÍSTICAS REPRODUTIVAS E CONGELAMENTO DO
SÊMEN DE REPRODUTORES DAS RAÇAS ALPINA E SAANEN
SUBMETIDOS AO MANEJO DE FOTOPERÍODO**

**Tese apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como parte das
exigências do Programa de Pós-
Graduação em Zootecnia, para
obtenção do título de “Magister
Scientiae”.**

**VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2001**

ANSELMO DOMINGOS FERREIRA SANTOS

**CARACTERÍSTICAS REPRODUTIVAS E CONGELAMENTO DO
SÊMEN DE REPRODUTORES DAS RAÇAS ALPINA E SAANEN
SUBMETIDOS AO MANEJO DE FOTOPERÍODO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de “Magister Scientiae”.

APROVADA: 29 de março de 2001.

Prof. Simone Eliza Facioni Guimarães

Prof. Carlos Antonio de C. Fernandes

Prof. Eduardo Paulino da Costa

(Conselheiro)

Prof. José Domingos Guimarães

(Conselheiro)

Prof. Ciro Alexandre Alves Torres

(Orientador)

Deus...

“A fé é o firme fundamento das coisas que se esperam, e a prova das coisas que não se vêem”.

“A vida tem dois caminhos.

Um permanente, imutável, eterno, que leva você à felicidade. O outro, passageiro, que leva à dor.

O permanente mostra-se difícil. Precisa ser procurado. Exige esforço, compreensão, persistência. O passageiro se oferece, apresenta atrativos.

Assim são os caminhos do bem e do mal.

Tenha coragem na escolha.

Todo sacrifício na estrada do bem produz luz e alegria que nunca se extinguem.

(Lourival Lopes – Sementes de Felicidade)

À minha mãe Silionisia Ferreira Santos e ao meu pai Ailton Cardoso Santos, pelas demonstrações de amor, confiança, dignidade, perseverança e justiça, dedico toda a minha vida.

Às minhas irmãs Naiara Carla, Naiara Mírian e Náira Cristina, pelo carinho, ternura, atenção, compreensão, e incentivo, dedico.

“Nunca permita que alguém que veio até você volte para casa sem se sentir melhor e mais feliz”.

(Anselmo Santos – 1998)

AGRADECIMENTO

Ao Professor **Ciro Alexandre Alves Torres**, pela sua experiência, amizade, compreensão e confiança.

Ao Professor **Eduardo Paulino da Costa**, pela confiança e amizade, pelos exemplos de humildade, trabalho, dedicação, perseverança e amor à profissão.

Ao Professor **José Domingos Guimarães**, pela amizade, pelo apoio, pelos exemplos de luta, competência, confiança e pelo incentivo.

Ao **CNPq**, pela concessão da bolsa de estudos.

Aos amigos **Jeferson, Alan, Hebert, Larissa, Áurea, Flavia, Vitor, Fabiene, Lívio, Débora, Regina, Marilú, Luciene, Breno, Ronier, Carlos, Deiler e Paulo** pelo apoio na execução deste trabalho, e também pela amizade, pelo companheirismo, incentivo e pela orientação.

Aos Professores **Giovani, Rita Flavia, José Maurício, Bento, Simone e Belmiro**, pelo apoio, pela orientação e pelo incentivo.

Ao funcionário **José Cândido (Nenzinho)**, pelo seu grande astral, pela prontidão e por ter ajudado a fazer do Laboratório de Reprodução Animal (DVT) a minha segunda casa, e a todos os funcionários do Departamento de Zootecnia, **Celeste, Adilson, Venâncio, Raimundo, Rosana, Márcia, Paulon, Sr. Jorge** e aos demais, pela presteza e disposição.

Aos professores, colegas de curso e funcionários do **DZO e DVT**, enfim, a todos aqueles que, direta ou indiretamente, ajudaram-me na minha formação.

BIOGRAFIA

ANSELMO DOMINGOS FERREIRA SANTOS, filho de Ailton Cardoso Santos e Sillionisia Ferreira Santos, nasceu na cidade de Vitória da Conquista (BA), em 05 de julho de 1973.

Graduou-se em Medicina Veterinária pela Universidade Federal da Bahia (UFBA), em fevereiro de 1998.

De março de 1998 a março de 1999, cursou a Especialização em Reprodução Animal do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Viçosa.

Em março de 1999, iniciou o curso de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, sob orientação do Professor Ciro Alexandre Alves Torres, concentrando seus estudos na área de Fisiologia da Reprodução.

Em 29 de março de 2001, submeteu-se à defesa de tese para a obtenção do título de “Magister Scientiae”.

ÍNDICE

RESUMO	vii
ABSTRACT.....	ix
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	03
3. MATERIAL E MÉTODOS	16
3.1. Local e animais experimentais	16
3.2. Fotoperíodo artificial.....	17
3.3. Mensurações ambientais.....	18
3.4. Biometria testicular e comportamento sexual.....	20
3.5. Coleta e avaliação do sêmen para exame físico	21
3.6. Exame morfológico e teste hiposmótico (HOST).....	22
3.7. Congelamento de sêmen.....	23
3.8. Descongelamento de sêmen, teste de termorresistência e integridade do acrossoma	24
3.9. Análises estatísticas.....	25
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
4.1 - Comportamento sexual.....	27
4.2 - Biometria testicular.....	29
4.3 - Características seminais	31
4.4 - Congelamento do sêmen.....	35
Teste de termorresistência (TTR).....	35

Teste hiposmótico (HOST).....	38
Integridade do acrossoma	44
5. CONCLUSÕES	45
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
APÊNDICE.....	54

RESUMO

SANTOS, Anselmo Domingos Ferreira Santos, M. S., Universidade Federal de Viçosa, março de 2001. **Características reprodutivas e congelamento do sêmen de reprodutores das raças Alpina e Saanen submetidos ao manejo de fotoperíodo.** Orientador: Ciro Alexandre Alves Torres. Conselheiros: Eduardo Paulino da Costa e José Domingos Guimarães.

O objetivo deste estudo foi comparar as características reprodutivas de machos caprinos das raças Alpina e Saanen, após tratamento com luz artificial. Foram utilizados oito animais (quatro de cada raça) adultos (58 meses) e jovens (11,7 meses). Foram utilizados dois períodos: Período 1 – primeiros 15 dias; e Período 2 – 16^º até 40^º dia. Após o tratamento fotoperiódico, registraram-se: comportamento sexual, perímetro escrotal (PE), características seminais e congelamento do sêmen por meio do Teste de Termo-resistência (TTR), Teste Hiposmótico (HOST) e integridade do acrossoma, a cada 48 horas. Animais jovens apresentaram menor tempo de reação (27 s) que adultos (62 s; $P < 0,05$). O PE diferiu entre idades dos animais ($P < 0,05$) e os animais jovens da raça Saanen tiveram maior PE que os jovens da Raça Alpina (28,7 cm versus 27,3 cm; $P < 0,05$). Observou-se aumento médio de 01 cm no PE (30,53 cm no período 1 para 31,53 cm no período 2) em todos os grupos estudados ($P < 0,05$). Animais da raça Alpina apresentaram melhor qualidade seminal de ejaculado que os da Saanen, e animais jovens apresentaram características seminais superiores aos adultos ($P < 0,05$): motilidade ($87,5\% \pm 7,5$ e $84,7\% \pm 7,5$ para Alpina e, $85,0\% \pm 7,7$ e

73,6% \pm 11,9 para Saanen), turbilhonamento (4,5 \pm 0,6 e 3,9 \pm 0,6 para Alpina e, 4,5 \pm 0,5 e 2,6 \pm 1,3 para Saanen), vigor (4,9 \pm 0,3 e 4,9 \pm 0,3 para Alpina e, 4,8 \pm 0,5 e 4,5 \pm 0,7 para Saanen) e defeitos maiores (4,9 \pm 2,6 e 7,2 \pm 4,2 para Alpina e, 6,5 \pm 5,0 e 17,4 \pm 17,5 para Saanen). Os animais da raça Alpina apresentaram melhor congelamento do sêmen que os da raça Saanen, e os jovens foram superiores aos adultos no teste de TTR ($P < 0,05$). O estresse térmico afetou a integridade da membrana espermática ($P < 0,05$). Os animais jovens tiveram menor perda de integridade da membrana plasmática seminal que os adultos (10,7% e 17,9%, respectivamente), após o descongelamento ($P < 0,05$). O tratamento de luz artificial foi eficiente no restabelecimento da atividade reprodutiva dos animais. Os animais da raça Saanen foram mais sensíveis aos efeitos da estação do ano e ao fotoperíodo que os da raça Alpina, e os animais jovens tiveram melhor qualidade e congelamento seminal que os adultos fora da estação reprodutiva.

ABSTRACT

SANTOS, Anselmo Domingos Ferreira Santos, M. S., Universidade Federal de Viçosa, March, 2001. **Reproductive features and freezability of semen of males goat of Alpine and Saanen bred after artificial light treatment.** Adviser: Ciro Alexandre Alves Torres. Committee members: Eduardo Paulino da Costa and José Domingos Guimarães.

The objective of this study was to compare reproductive features of two bred male goats, Alpine (n=4) and Saanen (n=4), after artificial light treatment in two periods: period 1 (first 15 days) and period 2 (16 to 40 days). Young (11.7 months, n=4) and adults (58 months, n=4). After light treatment, sexual behavior, scrotal perimeter (PE), seminal features and freezability of semen by means of, thermo-resistance (TTR), hypoosmotic swelling (HOST) and acrossomal integrity test at each 48 h. Young animals showed lower time (27.0 s) than adults (62.0 s; $P < 0.05$). The PE differed between ages ($P < 0.05$) and the young Saanen had bigger PE than the young Alpine (28.7 cm versus 27.3 cm; $P < 0.05$). The PE increased from 30.53 cm in period 1 to 31.53 cm in period 2 in all groups ($P < 0.05$). Alpine bucks had better seminal quality than Saanen bucks, and young animals presented superior seminal features than adults ($P < 0.05$): motility ($87.5\% \pm 7.5$ and $84.7\% \pm 7.5$ for Alpine, and $85.0\% \pm 7.7$ and $73.6\% \pm 11.9$ for Saanen), mass movement (4.5 ± 0.6 and 3.9 ± 0.6 for Alpine, and 4.5 ± 0.5 and 2.6 ± 1.3 for Saanen), vigor (4.9 ± 0.3 and 4.9 ± 0.3 for Alpine, and 4.8 ± 0.5 and 4.5 ± 0.7 for Saanen) and major defects (4.9 ± 2.6 and 7.2 ± 4.2 for Alpine, and 6.5 ± 5.0 and 17.4 ± 17.5 for Saanen). Alpine breed semen presented

better freezability than Saanen, and young were superior than adults in TTR ($P < 0.05$). Heat stress affected membrane integrity of spermatozoa ($P < 0.05$). After freezing-thawing, membrane integrity decreased less intensively in young than in adult animals (10.7 and 17.9%, respectively) ($P < 0.05$). Artificial light treatment was efficient to reestablish reproductive activity. Saanen bucks were more sensible to effects of season and photoperiod than Alpine bucks, and young animals had better quality and freezability than adults out of the reproductive season.

1. INTRODUÇÃO

A caprinocultura brasileira é explorada, principalmente, na região Nordeste (88,4%), onde assume importante papel na geração de renda (MOREIRA et al., 2000). Nos últimos anos, a atividade tem crescido bastante, mas ainda possui baixos índices de produtividade e, dessa forma, a aquisição de animais geneticamente superiores, com sêmen de qualidade comprovada, torna-se uma alternativa viável para incrementar a produção dos rebanhos (BECKER-SILVA et al., 2000).

A inseminação artificial (IA) em caprinos no Brasil ainda permanece num estágio incipiente de adoção, principalmente pela insuficiência de metodologias adequadas de congelamento de sêmen (MACHADO, 1991).

O ejaculado caprino apresenta particularidades que o diferencia do sêmen de outros ruminantes domésticos (SIMPLÍCIO e MACHADO, 1989), por isso, inúmeras pesquisas têm sido realizadas na área de criopreservação, com o objetivo de se estabelecer protocolos de congelamento que permitam a obtenção de sêmen de alta viabilidade após o descongelamento e, assim, atingir altas taxas de fertilidade no rebanho.

O macho caprino apresenta estacionalidade reprodutiva e diversas variáveis devem ser consideradas no processo de criopreservação de sêmen, tais como: raça, idade, características seminais, sazonalidade reprodutiva (fotoperíodo), latitude, etc.

Os caprinos, tanto os machos quanto as fêmeas, principalmente os de origem européia, não se reproduzem durante os meses de março a julho nos seus países de origem (DINIZ, 1980). No macho, pesquisas sobre o comportamento sexual mostraram variações estacionais acentuada, no que diz respeito ao número de saltos semanais (secreção de andrógenos), e à qualidade dos ejaculados (diminuição do volume do sêmen e aumento da concentração em espermatozoides). Segundo KARATZAS et al. (1997), a amplitude dessas variações está em função da raça e da latitude, diferindo de país para país, exceto nos da região equatorial.

As variações estacionais entre raças são importantes pois o macho da raça Bôer, por exemplo, produz três vezes mais espermatozoides que o da raça Zambiana (Igboeli, 1974, citado por NUNES, 1982).

O conhecimento do comportamento sexual associado às variações na produção e congelamento espermático, no período pós-puberal, permitirão determinar a melhor época e idade de reprodução do macho caprino, possibilitando a sua melhor utilização (MAIA e VIEIRA, 1992).

Objetivou-se estudar os machos caprinos das raças Alpina e Saanen, de duas idades diferentes, após o manejo de fotoperíodo, no fim do inverno e início da primavera, quanto ao comportamento sexual, perímetro escrotal, sêmen e seu congelamento.

2. REVISÃO DE LITERATURA

O início da maturidade sexual pode exercer grande influência na eficiência reprodutiva de um animal, e o conhecimento das características da puberdade e do desenvolvimento sexual precoce são critérios importantes na seleção dos reprodutores (BECKER-SILVA et al. 2000).

A puberdade em caprinos é precoce, mas a eficiência reprodutiva plena só é atingida após algumas semanas. Nessa fase, os testículos ainda se encontram em desenvolvimento e, embora a espermatogênese se assemelhe à do animal adulto, sua atividade espermatogênica plena só é atingida mais tarde (AHMAD e NOAKES, 1996).

Em caprinos da raça Moxotó, a puberdade foi considerada como o surgimento do primeiro espermatozóide no sêmen ejaculado, e ocorreu com 4,7 meses de idade. Da puberdade em diante, as características seminais, tais como o volume, a concentração, o vigor e a porcentagem de espermatozoides móveis aumentam, mesmo após o animal ter alcançado a idade da maturidade sexual, que é atingida de quatro a oito meses de idade (TRALDI, 1983), e para as raças Saanen e Alpina é de 5,8 meses (AHMAD e NOAKES, 1996). O sêmen de animais púberes apresenta qualidade regular, quando comparada àquela de animais adultos. No período pós-puberal, o aspecto do ejaculado, que a princípio é aquoso ou turvo, torna-se leitoso; o volume, a concentração e a motilidade espermática aumentam

gradativamente, acompanhados de um aumento na porcentagem de espermatozoides vivos e morfologicamente normais (TRALDI, 1983).

VILAR FILHO et al. (1993a) examinaram as características testiculares de caprinos das raças Alpina, Anglo Nubiana e Canindé criados na região semi-árida do estado da Paraíba, com idade variando entre nove e 67 meses, e encontraram para a raça Alpina: perímetro escrotal de 25,8 cm, volume de 367,2 mL e comprimento de 7,4 cm; Raça Anglo Nubiana: perímetro escrotal de 25,3 cm, volume de 385,0 mL, e comprimento de 7,75 cm; e para a raça Canindé: 23,9 cm, volume de 270,0 mL, e comprimento de 7,3 cm.

BECKER-SILVA et al. (2000) avaliaram o peso corporal, perímetro e volume escrotal, a liberação prepucial e as características seminais de machos da raça Saanen do nascimento até 12 meses de idade. Aos três meses de idade, 77,8 % dos animais tinham completa liberação prepucial, e aos quatro meses, todos tinham completado a liberação prepucial. Nenhum macho apresentou espermatozoides no ejaculado aos três meses de idade; 23,1% deles ejacularam espermatozoides vivos aos quatro; e aos sete meses, a motilidade espermática foi de 70,0%. O tamanho do testículo aumentou pouco antes de espermatozoides vivos serem encontrados no ejaculado, e teve maior correlação com o peso corporal ($r = 0,92$) que com a idade ($r = 0,84$). Por outro lado, a motilidade espermática teve maior correlação com a idade ($r = 0,55$) que com o peso corporal ($r = 0,45$) ou perímetro escrotal.

O comportamento sexual é indispensável à preservação das espécies e consta do conjunto de iniciativas e atitudes que implicam na realização da cópula e nos posteriores fenômenos de fecundação (HAFEZ, 1987).

Conforme CHENOWETH (1981), a libido pode ser definida como a disposição e avidez do macho para montar e copular a fêmea, e o comportamento de monta definido como as atividades do macho, antes, durante e após o coito. Estas características podem ser influenciadas por fatores genéticos, estação do ano, raça, níveis hormonais (andrógenos), sanidade, manejo, dominância e idade, entre outros.

A fertilidade de um rebanho está diretamente relacionada ao número de fêmeas servidas (MACHADO et al., 1994) e as interações entre machos e fêmeas exercem importante função no estímulo e na manutenção do comportamento sexual, em ambos os sexos. A presença permanente (ou ausência) de outros animais, do mesmo ou de sexo oposto, pode modificar a médio ou longo prazo a habilidade reprodutiva dos machos (SIGNORET et al., 1990).

Os componentes pré-coitais da libido no bode, que ajudam a testar a receptividade da fêmea para o ato sexual, são: cheirar o períneo da fêmea, cortejar com a pata, flêmen, expor a língua várias vezes, emitir sons de tons graves, expor o pênis, urinar sobre si mesmo e realizar falsas montas (FRASER, 1980).

Nos estádios iniciais da sexualidade, os caprinos não fazem diferenciação sexual e montam nos companheiros ou lateralmente nas fêmeas, sem ereção ou protusão do pênis, tentam manter contatos urogenitais, cheiram a vulva das fêmeas e o prepúcio dos machos. Com a evolução da sexualidade, ocorre a liberação do prepúcio e os animais passam a praticar a masturbação, além de distinguir as fêmeas dos machos. Na puberdade, os animais já realizam o cortejo característico do macho adulto, tem ereção e concluem a cópula (ELWISHY e ELSAWAF, 1971).

A performance sexual de machos caprinos pode ser aumentada se se deixar que observem o cortejo e a cópula de outros machos (desafio), antes de serem colocados com fêmeas em estro (PRICE et al., 1985). De acordo com PRICE et al. (1998), machos caprinos estimulados sexualmente mostraram 11,1 montas sem ejaculação, 3,1 montas com ejaculação e 5,1 montas por ejaculação.

MACHADO et al. (1994) compararam três métodos de avaliação do desejo sexual e da habilidade para o serviço de 20 bodes jovens. Nos testes competitivos, usaram fêmeas em estro (CSE) ou fora do estro (CSN), e no teste individual (CSI) usaram fêmeas em estro. A estimulação visual prévia foi positiva para os bodes, mas não influenciou o tempo de reação. Todavia,

o número de montas atingido nos testes competitivos foi superior ao do teste individual.

O pré-requisito para a normalidade reprodutiva do macho é a produção contínua e a quantidade adequada de espermatozóides funcionalmente normais que é obtida por meio da regulação hormonal. A testosterona é importante para o desenvolvimento e a manutenção da espermatogênese e pelas características sexuais secundárias do macho (STABENFELDT e EDQVIST, 1988).

A secreção de testosterona pelas células de Leydig é estimulada pelo LH (hormônio luteinizante), e as concentrações séricas de LH e testosterona flutuam consideravelmente ao longo do período de 24 h e, em bodes, aumentam com a diminuição do comprimento do dia (MUDUULI et al., 1979; RITAR, 1991). Assim, a atividade reprodutiva está relacionada à redução no número de horas de luz, por meio de seus efeitos sobre o hipotálamo e a glândula pineal, levando ao aumento na amplitude e na frequência de liberação do LH, culminando em maior produção (MUDUULI et al., 1979; STABENFELDT e EDQVIST; 1988; DELGADILLO e CHEMINEAU, 1992).

Em machos caprinos, a concentração sérica de testosterona aumentou na metade do verão e manteve-se alta até o início do inverno. A atividade da inibina no plasma seminal, o número de espermatozóides e as concentrações séricas de FSH, LH e testosterona mudaram com a estação do ano. A atividade da inibina reduziu no outono e tendeu a aumentar no inverno, enquanto o número de espermatozóides começou a aumentar no outono. O FSH, LH e testosterona séricos atingiram o pico um mês após o solstício de verão (MIYAMOTO et al., 1987).

DELGADILLO e CHEMINEAU (1992) estudaram se as rápidas alterações entre dias longos e curtos eliminavam a variação sazonal na atividade do eixo hipotálamo-hipófise-testículo em machos caprinos das raças Saanen e Alpina durante o ano. A frequência de pulsos de LH variou com o comprimento do dia e essa frequência foi maior nos dias longos que nos dias curtos, quando submetidos a um mês de dias longos alternado com

um mês de dias curtos, e essa frequência foi maior nos dias curtos que nos dias longos, quando expostos a dois meses de dias longos alternados com dois meses de dias curtos. A secreção de testosterona também variou com o comprimento do dia, acompanhando as mudanças nas frequências de pulsos de LH.

A testosterona também é importante para o desenvolvimento e a manutenção da libido, além da atividade secretória dos órgãos acessórios masculinos e do desenvolvimento das características corporais associadas com o fenótipo masculino.

A termorregulação é um mecanismo de extrema importância para os animais homeotérmicos, regulados via integração de mecanismos neurofisiológicos, que atuam na produção e dissipação de calor (ROBINSON, 1993). Temperaturas corpóreas elevadas, durante o período de altas temperaturas ambientais, levam à degeneração testicular e reduzem a porcentagem de espermatozoides normais no ejaculado (KARABINUS et al., 1997).

Diversos relatos mostram as influências estacionais sobre o volume, a concentração, a motilidade e a morfologia espermática, mas existem divergências quanto às estações em que se observam os maiores e os menores valores. Tanto nas regiões tropicais quanto nas temperadas, observam-se ejaculados com baixa motilidade e alta porcentagem de células defeituosas, durante os períodos de verão (KUMF-DIAKA et al., 1981; SEKONI e GUSTAFSSON, 1987).

O reflexo da temperatura na qualidade do ejaculado pode ser verificado em diversos momentos, dependendo da fase da espermatogênese que foi afetada. Assim, se o estresse térmico ocorreu no final da espermatogênese ou durante a maturação epididimária, haverá comprometimento na condensação do DNA, sem modificação na morfologia dos espermatozoides já formados (VOGLER et al., 1993).

McNITT e FIRST (1970) citaram que, embora não seja observado nenhum efeito no volume ou na produção de gel no ejaculado de suínos, o estresse térmico diminui a motilidade espermática e aumenta a porcentagem

de patologia seminal e acrossomas anormais, o que foi corroborado pelos resultados de WETTERMAN e DESJARDINS (1979) ao encontrar que o estresse calórico suprimiu a maturação do espermatozóide com subsequente diminuição da produção e qualidade seminal.

KUMI-DIAKA et al. (1981) avaliaram mudanças na qualidade espermática relacionada com as estações do ano de cinco touros de origem européia (*Bos taurus*) e cinco de origem indiana (*Bos indicus*) e não observaram variação estacional na concentração, porcentagem de células vivas e anormalidades espermáticas nos touros indianos, porém os touros europeus apresentaram significativa flutuação estacional com baixa concentração, elevada anormalidade espermática, e baixa porcentagem de espermatozoides vivos durante os períodos quentes.

HUANG et al. (2000) avaliaram a concentração de proteína do choque térmico (HSP70) no sêmen de suínos durante a estação quente e fria, comparando com as características seminais, e observaram que, durante os meses quentes, houve uma diminuição da concentração de HSP70, acompanhada pelo aumento na porcentagem de anormalidades espermáticas, sugerindo que a menor concentração de HSP70 no calor pode estar associada com a qualidade seminal.

Segundo BUFFINGTON et al. (1977), o índice mais preciso para se medir o conforto térmico de animais é o Índice de Temperatura de Globo Negro e Umidade (ITGU), obtido a partir do índice de temperatura e umidade, pela inserção da temperatura de globo negro em substituição à temperatura de bulbo seco. O ITGU engloba, em único valor, os efeitos da temperatura de bulbo seco, velocidade do ar, umidade relativa e radiação.

Conforme CURTIS (1983) e MÜLLER (1989), até o índice de 74 ou zona de conforto térmico, a temperatura corporal se mantém constante, com o mínimo de esforço do sistema termorregulador, onde não existe sensação de frio ou de calor e, o animal tem seu metabolismo normal. Na Zona de Alerta, começam a atuar os primeiros mecanismos de termorregulação, como a vasodilatação, o suor e a taquipnéia, buscando a diminuição do isolamento corporal, favorecendo a dissipação do calor e, também, a busca

da sombra, pisos frios, lugares molhados, isolamento dos companheiros, e a temperatura corporal e a produção de calor permanecem constantes. Na Zona de Perigo, os mecanismos termorregulatórios se intensificam e o animal busca reduzir seu metabolismo pela diminuição da atividade da tireóide, produzindo menor quantidade de tiroxina e, conseqüentemente, pela diminuição do apetite (anorexia e hipoalimentação), e pelo consumo das reservas corporais. O nível de calor tende a aumentar e, como resultado, há uma diminuição da síntese protéica, mesmo que o animal ainda mantenha sua homeotermia.

A estação do ano, pelas mudanças fotoperiódicas, interfere na atividade espermatogênica de bodes, com diminuição quantitativa e qualitativa na produção e na fertilidade do sêmen, demonstrando mínima porcentagem de motilidade e vigor dos espermatozóides durante a primavera e o verão (estação de anestro das cabras) (DELGADILLO et al., 1991; DELGADILLO et al., 1999). Todavia, ROCA et al. (1992) avaliaram as anormalidades sazonais do sêmen de machos caprinos da região Mediterrânea e verificaram todos os tipos de anormalidades espermáticas, sendo que a gota protoplasmática proximal e os danos acrossomais foram as predominantes. A pior qualidade seminal foi observada durante o inverno e na primavera, e se relacionou tanto ao comprimento do dia como à concomitante diminuição do tamanho testicular neste período (ROCA et al., 1991).

TULI e HOLTZ (1995) estudaram a influência da estação na porcentagem de espermatozóides móveis e vivos pré e pós-congelamento em machos da raça Bôer, e observaram que o sêmen congelado no inverno teve maior proporção de espermatozóides móveis (45%) e vivos (49%) que o sêmen congelado na primavera (29 e 32%).

Em estudos realizados na Grécia, ZYGOGIANNIS et al. (1989) obtiveram taxa de 72,7% de nascimentos com sêmen fresco de bodes da raça Parda Alpina, coletado no final da estação não reprodutiva, e STAMATIADIS (1990) não encontrou variação sazonal durante o ano sobre as características do sêmen de bodes Alpinos, embora o sêmen de

qualidade superior tenha sido coletado de junho e setembro (período reprodutivo), e concluiu que o sêmen de bodes Alpinos é apto para inseminação artificial durante todo o ano. Entretanto, KOUTSOURIS e ELEFThERIOU (1990) observaram variação sazonal na produção de sêmen de bodes das raças Saanen e nativas, com diminuição da produção durante a primavera e aumento no outono.

KARATZAS et al. (1997) avaliando a fertilidade do sêmen fresco e congelado de bodes das raças Parda Alpina, Saanen e Damasco, coletados fora da estação reprodutiva, concluíram que esses sêmens podem ser utilizados com sucesso fora da estação reprodutiva. Finalizando, KARAGIANNIDIS et al. (2000), estudando as características seminais de bodes das raças Parda Alpina, Saanen e Damasco e o efeito da variação sazonal na qualidade de seus semens, encontraram variação sazonal em quantidade (volume, concentração e número total de espermatozoides por ejaculado) e qualidade (porcentagem de espermatozoides móveis, porcentagem de anormalidades e taxa de motilidade progressiva), e o sêmen de melhor qualidade foi aquele produzido durante a estação de cobertura (final do verão e outono). Entretanto, as magnitudes desses efeitos sazonais não limitaram o uso dos bodes para reprodução durante todo o ano.

DELGADILLO et al. (1992), utilizando três grupos de machos caprinos das raças Saanen e Parda Alpina, analisaram se alterações bruscas entre dias longos e curtos eliminariam a variação sazonal da atividade espermatogênica. Como resultado, a eliminação da variação fotoperiódica sazonal na qualidade do sêmen aumentou a produção de 69,0% e 54,7% de doses congeladas e a fertilidade seminal não mostrou diferença.

O sêmen é geralmente coletado por meio de vagina artificial, na presença de uma fêmea em estro e, menos freqüentemente, por eletroejaculação. Este último método produz ejaculado de maior volume e menor concentração que o primeiro, mas sem interferência na motilidade do espermatozoide (AKUSU et al., 1984). Como o plasma seminal tem demonstrado ser prejudicial ao processo de congelamento de sêmen caprino

(NUNES, 1982; LEBOEUF et al., 2000), o método de eletro-ejaculação não é o indicado para as coletas.

A porcentagem de espermatozóides móveis e a motilidade individual progressiva são os parâmetros mais comumente usados para medir a qualidade do sêmen. A motilidade individual progressiva se refere ao vigor ou intensidade de movimentação linear dos espermatozóides, que é avaliada em escala de 0-5, onde zero corresponde à imobilidade total e cinco, a máxima movimentação progressiva, conforme Corteel (1981), citado por MAIA e VIEIRA (1992).

Coletas de sêmen de caprinos no início do período pós-puberal (204 dias ou na 8ª semana após início da puberdade) demonstraram melhoria no volume, na concentração, na motilidade individual progressiva do sêmen, apesar da elevada porcentagem de espermatozóides anormais (69,4%) (MAIA e VIEIRA, 1992).

VILAR FILHO et al. (1993b), avaliando as características físicas e morfológicas do sêmen das raças Alpina encontraram volume de 0,66 mL, motilidade de 50,7%, turbilhonamento de 2,27, concentração de $2,47 \times 10^6$ espermatozóides / mm^3 , e uma concentração total de $1,69 \times 10^9$ espermatozóides. E, KARATZAS et al. (1997), avaliando as características seminais dos machos das raças Alpinas e Saanen, dentro e fora da estação reprodutiva, encontraram volume de 1,3 e 1,1 e 0,6 e 0,7 mL, concentração de $3,6$ e $3,2$ e $4,7$ e $4,4 \times 10^9$ / mL, número de espermatozóides totais de $4,7$ e $3,7$ e $3,01$ e $3,3 \times 10^9$ espermatozóides e porcentagem de espermatozóides móveis de 60,0 e 65,8 e 48,0 e 59,4%, respectivamente.

FRESNO et al. (2000) estudaram as características seminais de bodes da raça Canária, com idade variando entre 1 e 3 anos, e encontraram: volume de 1,67 mL, concentração de $4,33 \times 10^9$ espermatozóides / mL, concentração total de $7,32 \pm 2,92 \times 10^9$ espermatozóides, turbilhonamento de $4,05 \pm 0,22$, porcentagem de espermatozóides móveis de 74,7 e vigor de 3,83. Não foram encontradas diferenças entre as principais características seminais durante o período estudado, que compreendeu duas estações (primavera e verão).

No bode, a remoção do plasma seminal, imediatamente após a coleta, aumenta a porcentagem de células vivas e a motilidade durante preservação em diluentes à base de gema de ovo ou leite, mas com qualidade inferior à encontrada para o sêmen obtido do epidídimo, indicando a presença no plasma seminal de um componente prejudicial para a criopreservação (LEBOEUF et al., 2000).

AAMDAL et al. (1965) verificaram a presença de uma enzima no plasma seminal, conhecida por “fator coagulante da gema de ovo” ou lecitinase ou fosfolipase A, que causava a imobilidade dos espermatozóides. Essas enzimas catalisavam a hidrólise da lecitina da gema de ovo em ácidos graxos e lisolecitinas, sendo as últimas as responsáveis pela toxicidade aos espermatozóides (AZAWI e AL-DAHASH, 1993 e MÉNDEZ et al., 1994). A presença da fosfolipase A no plasma seminal de caprinos é desfavorável ao congelamento, e sua remoção por meio de centrifugação do sêmen melhora a sobrevivência dos espermatozóides pós-descongelamento (TULI e HOLTZ, 1994; SIMPLÍCIO e MACHADO, 1989).

Diluentes à base de leite-gema, possivelmente, provocavam declínio acentuado na motilidade espermática, por causa dos componentes desconhecidos do leite, que interagem com enzimas secretadas pelas glândulas bulbouretrais no plasma seminal de caprinos (AZAWI e AL-DAHASH, 1993). A diminuição da sobrevivência dos espermatozóides durante o congelamento em diluentes com leite é proveniente de uma fração protéica, também da glândula bulbo-uretral de bodes, denominada SBUIII, que interage com os constituintes do diluente, inibindo, fortemente, a motilidade do espermatozóide. O componente glandular responsável por esse efeito tem sido identificado como uma lipase triacilglicerol (PELLICER, 1995). Recentemente, o componente da SBUIII, em bodes, foi identificado como proteína *N*-glicosil monomérica, que promove a diminuição na porcentagem de espermatozóides móveis, deterioração na qualidade dos movimentos, lesão no acrossoma e morte celular de espermatozóides do epidídimo, diluídos em leite desnatado (PELLICER, 1995).

O plasma seminal produzido fora da estação reprodutiva foi mais prejudicial à motilidade e sobrevivência dos espermatozóides retirados do epidídimo e mantidos em diluentes à base de leite desnatado, que o plasma seminal produzido dentro da estação reprodutiva.

Para TULI e HOLTZ (1994), a liberação da enzima glutamato oxaloacetato transaminase (GOT) no plasma extracelular tem sido usada como indicativo de danos de membrana das células espermáticas, existindo uma correlação negativa entre a liberação de GOT e a motilidade progressiva, durante o pré e o pós-congelamento do sêmen.

Os ejaculados coletados dentro da estação reprodutiva contém mais plasma seminal que aqueles obtidos fora da estação reprodutiva, verificando-se alta correlação negativa entre o volume do plasma seminal no ejaculado e a porcentagem de células móveis após o descongelamento. A porcentagem de células móveis após o descongelamento foi proporcional à concentração de células espermáticas e inversamente proporcional ao volume inicial do ejaculado (CORTEEL e LEBOEUF, 1987). A lavagem do sêmen em solução fisiológica aumentou a porcentagem de espermatozóides móveis e a motilidade antes e após o congelamento (CORTEEL, 1974).

O processo de preservação de sêmen, particularmente no estado congelado, causa danos ultra-estruturais, bioquímicos e funcionais aos espermatozóides, resultando na redução da motilidade, viabilidade, dificultando o transporte no trato reprodutivo feminino e, conseqüentemente, prejudicando a fertilidade (LEBOEUF et al., 2000). Esses danos são atribuídos à ruptura da membrana causada pela formação de cristais de gelo intracelular, que ocorre durante o processo de congelamento, ou por efeitos osmóticos ou forças mecânicas do gelo extracelular durante o lento resfriamento (MAZUR, 1984), e pela perda da atividade da enzima superóxido dismutase, seguindo a criopreservação, expondo os espermatozóides aos danos peroxidativos (Álvares e Storey, 1992, citados por AITKEN, 1995).

O problema da criopreservação não está na habilidade de os espermatozóides se manterem viáveis a -196°C (temperatura em que não há reações bioquímicas nem energia térmica dentro das células), mas sim em suportar os danos que ocorrem durante o congelamento e o descongelamento, principalmente ao passar pela zona de temperatura crítica, entre -15°C e -60°C . Nesta faixa de temperatura, ocorrem fenômenos oriundos do processo de resfriamento, tais como: formação de cristais intra e extracelular, desidratação e distorção da membrana plasmática (ANGOLA, 1994).

O teste de termorresistência é utilizado para avaliar o comportamento dos espermatozóides incubados a 37°C , por meio da avaliação da motilidade e do vigor, depois de determinado tempo e, dessa forma, prever a fertilidade seminal (BARNABE et al., 1981). Nesse sentido, vários autores passaram a preconizá-lo como prova habitual para a avaliação da integridade espermática, após o processamento do sêmen (OLAR et al., 1989). Assim, o sêmen é submetido a condições de temperatura semelhantes à do trato genital feminino para alcançar e penetrar no ovócito (AMANN, 1989), dando uma idéia de resistência (longevidade) do sêmen no pós-inseminação (BARNABE et al., 1981).

O teste hiposmótico (HOST) foi originalmente elaborado para uso com espermatozóides humanos, avaliando-se a atividade bioquímica da membrana espermática intacta (JEYENDRAN et al., 1984). Esse teste se baseia na observação de que um espermatozóide, com uma membrana celular íntegra, se colocado em solução hiposmótica permite a passagem da água pela membrana celular até o restabelecimento do equilíbrio entre os fluidos extra e intracelulares. Assim, a célula aumenta de volume e a membrana que cobre a cauda do espermatozóide se expande, causando um dobramento do flagelo (HOSSAIN et al. 1998), uma vez que os filamentos do axonema da cauda estão intimamente relacionados com a membrana plasmática. A membrana plasmática da região da cauda dos espermatozóides apresenta maior susceptibilidade a condições hiposmóticas

e, por isso, nota-se o edema celular (JEYENDRAN et al., 1984; JEYENDRAN et al., 1992).

SODERQUIST et al. (1997) avaliaram a integridade da membrana espermática de ovinos por meio do HOST. Sob microscopia de contraste de fase (x1000) foram contados 200 espermatozóides, encontrando-se 65,7% de caudas dobradas.

ROTA et al. (2000) correlacionaram os resultados do HOST com a capacidade fertilizante *in vitro* do sêmen congelado de cinco touros. Foi encontrada uma porcentagem de 43,8% (variando de 18,1% até 59,8%) de caudas dobradas após o descongelamento do sêmen. Entretanto, as análises mostraram diferença entre os touros quanto à habilidade em responder ao HOST, em cada fase de preparação do sêmen, apesar de não ter havido diferença na fertilidade *in vitro* entre os touros. Provavelmente, outras variáveis podem estar implicadas no potencial de fertilidade, além da funcionalidade da membrana, especialmente sob condições *in vitro*.

KUMI-DIAKA (1993), trabalhando com sêmen canino, recomendou a incubação durante 45 minutos em solução de frutose com osmolaridade de 60 mOsmol, e encontraram 77,7% de espermatozóides com a cauda enrolada nas amostras de sêmen fresco, 78,7% após o resfriamento por 24 h, a 5°C, e 56,7% após o descongelamento, obtendo-se alta correlação entre o HOST e a motilidade espermática, que pode ser explicada pelo fato de a motilidade ser parcialmente dependente da integridade da membrana plasmática.

O acrossoma mamífero é uma bolsa ou capuz cefálico contendo no seu interior enzimas (lisossomas) essenciais para a fecundação do ovócito, derivado do complexo de Golgi e se localiza na porção anterior do núcleo espermático (CROSS e MEIZEL, 1989). A integridade acrossômica é considerada uma característica seminal importante (DE LEEUW et al., 1991).

TASSERON et al. (1977) observaram danos acrossomais em espermatozóides de carneiros, durante todos os estádios de congelamento (diluição, resfriamento, e congelamento) e descongelamento, resultando em

dano cumulativo de cerca de 40%, detectado por meio de microscopia de luz, e de cerca de 70% detectado por meio de microscopia eletrônica. Embora cause infertilidade, os danos acrossômicos não interferem na motilidade, e são distribuídos igualmente entre a população de espermatozóides móveis e imóveis. SODERQUIST et al. (1997), avaliando a integridade acrossomal de espermatozóides congelados e descongelados a 35°C pela adição de uma alíquota de sêmen em formol salino, encontraram um total de 67,6% de acrossomas intactos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local e animais experimentais

O experimento foi realizado no Setor de Caprinocultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, situada à 20°45'20" latitude S e 42°52'40" W Gr, altitude média de 752,5m, temperatura média anual de 20,9°C, índice pluviométrico anual de 1.203mm e clima do tipo Cwa (inverno seco e verão chuvoso), pela classificação de Köeppen (Fonte: CETEC).

O período experimental foi de julho a novembro de 2000, quando os animais se encontravam no período de estação não-reprodutiva. Foram selecionados, como doadores de sêmen, oito reprodutores adultos, clinicamente sadios, sendo quatro machos da raça Alpina – PO e quatro da raça Saanen, de duas idades diferentes.

A idade média dos animais jovens e adultos, de ambas as raças, encontram-se na Tabela 1. Houve diferença ($P < 0,05$) entre idade dentro de raças, portanto, foi possível fazer um estudo comparativo entre grupos isolados sobre as características reprodutivas dependentes dos fatores raça e idade, bem como as suas interações, sob os mais variados aspectos, no que tange à fertilidade do macho caprino fora da estação reprodutiva.

Neste experimento, a idade média dos animais jovens foi de 11,7 meses, quando já podem ser considerados maduros sexualmente. Esta idade precoce permite reduzir o intervalo de gerações nos programas de melhoramento genético e aumentar o número de descendentes de um reprodutor.

Tabela 1 - Idade média dos animais das raças Alpina e Saanen

	Alpina	Saanen
Jovens (meses)	12,4 ± 1,5 ^b	11,0 ± 0,0 ^b
Adultos (meses)	65,0 ± 0,0 ^a	51,1 ± 2,0 ^a

^{a, b} Médias seguidas pela mesma letra sobrescrita na mesma coluna não diferem entre si, Teste F (P <0,05).

Todos os animais foram manejados em baias individuais. A dieta foi constituída de 50% de silagem de milho, 30% de milho desintegrado com palha e sabugo + 5% de uréia, e 20% de polpa cítrica, obtendo-se um valor nutricional de 1,47% de energia líquida (mcal), 11,68% de proteína bruta, 30,88% de fibra detergente neutro, 0,53 % de cálcio e 0,24% de fósforo. O total de consumo estimado foi de 1,5 kg de matéria seca ou 2,9 kg de matéria natural.

O sal mineral e água foram fornecidos *ad libitum*. O controle sanitário dos animais foi realizado periodicamente.

3.2. Fotoperíodo artificial

Os animais foram submetidos a tratamento de fotoperíodo artificial, de acordo com o procedimento preconizado por DELGADILLO et al. (1992), iniciado no dia 1º de julho e com término em 30 de agosto de 2000, totalizando 60 dias. Um *timer* foi programado para acender as lâmpadas mistas (220 W) das baias, das 17 às 20 e das 4 às 7 h, de forma que os animais permanecessem diariamente 16 h no claro e 8 h no escuro.

A avaliação das características reprodutivas dos machos iniciou após o final do tratamento de fotoperíodo artificial e foi dividido em dois períodos: Período 1, que começou em 31 de agosto até 15 de setembro; e Período 2, que foi de 16 de setembro até 10 de outubro de 2000.

3.3. Mensurações ambientais

Em uma baía, localizada no centro da instalação onde ficavam alojados os reprodutores, foram colocados a uma altura média de 70 cm do chão: termômetro de bulbo seco e de bulbo úmido, termômetro de máxima e mínima e termômetro de globo negro. Termômetros de bulbo seco e de bulbo úmido e um termômetro de máxima e mínima também foram colocados à sombra, próximo da instalação, e um termômetro de globo negro ficou exposto ao sol.

As mensurações térmicas (termômetro de bulbo seco e de bulbo úmido e globo negro) foram realizadas de cinco em cinco dias, e a cada duas horas, no período de 12h (das 6 às 18 h). As temperaturas máximas e mínimas foram tomadas diariamente às 8 h.

O índice para a mensuração do conforto térmico foi o ITGU (Índice de Temperatura de Globo e Umidade) que, segundo BUFFINGTON et al. (1977), é o mais preciso para se medir o conforto térmico de animais, que foi obtido segundo a equação:

$$ITGU = 0,72 (Tgn + Tbu) + 40,6$$

sendo

Tgn = temperatura de globo negro, °C; e

Tbu = temperatura de bulbo úmido, °C.

Os valores de ITGU que definiram a situação de conforto dos caprinos foram os mesmos utilizados para bovinos, onde até 74 significou zona de conforto térmico; de 74 a 78, uma situação de alerta (desconforto); de 79 a 84, uma situação perigosa (estresse moderado) e acima de 84 emergência (estresse severo).

Os valores encontrados para o ITGU durante os dois períodos experimentais são apresentados na Figura 1.

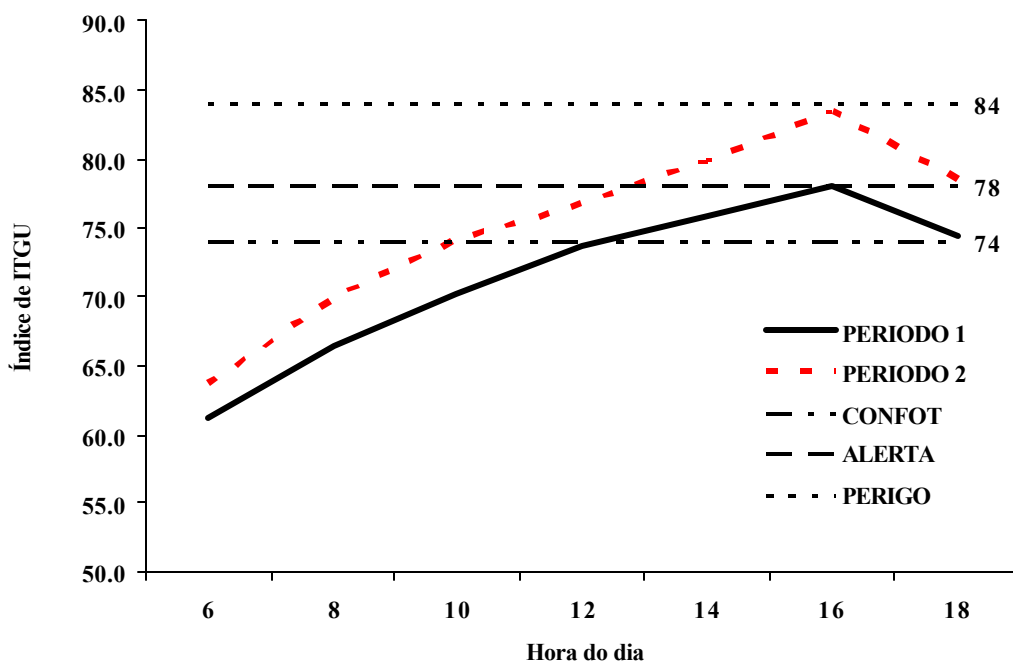


Figura 1 - Índices de ITGU obtidos nos dois períodos experimentais. Período 1 equivale aos primeiros 15 dias ou até a quinta coleta de sêmen. O período 2 compreende do 16^o dia até o 40^o dia.

Como observado na Figura 1, no período 1, os animais se encontravam dentro da faixa de conforto térmico até aproximadamente 12 h, entrando na faixa de Alerta após este horário, mas nunca o excedendo (faixa de perigo). No período 2, os animais já se encontravam na faixa de Alerta desde aproximadamente 10 h, permanecendo nessa faixa por aproximadamente duas horas, e então passavam para a faixa de Perigo, onde permaneciam por aproximadamente seis horas, até retornarem para a faixa de Alerta, onde ainda continuavam sob estresse térmico.

Embora os animais tenham ficado várias horas do dia sob estresse térmico no período 1 (aproximadamente cinco horas), o resto do dia (horas) pode ter sido suficiente para compensá-lo, em termos de perda de calor e consumo de alimentos. Todavia, no período 2, a exposição ao estresse térmico aconteceu de forma mais intensa e por um tempo maior (acima de oito horas), podendo levar a alterações fisiológicas que podem não ter sido

compensadas no resto do dia, o que corrobora os achados de BORGES (1999).

O aumento nos índices de ITGU foi provocado, principalmente, pelo aumento na temperatura ambiente no decorrer do estudo (Figura 2).

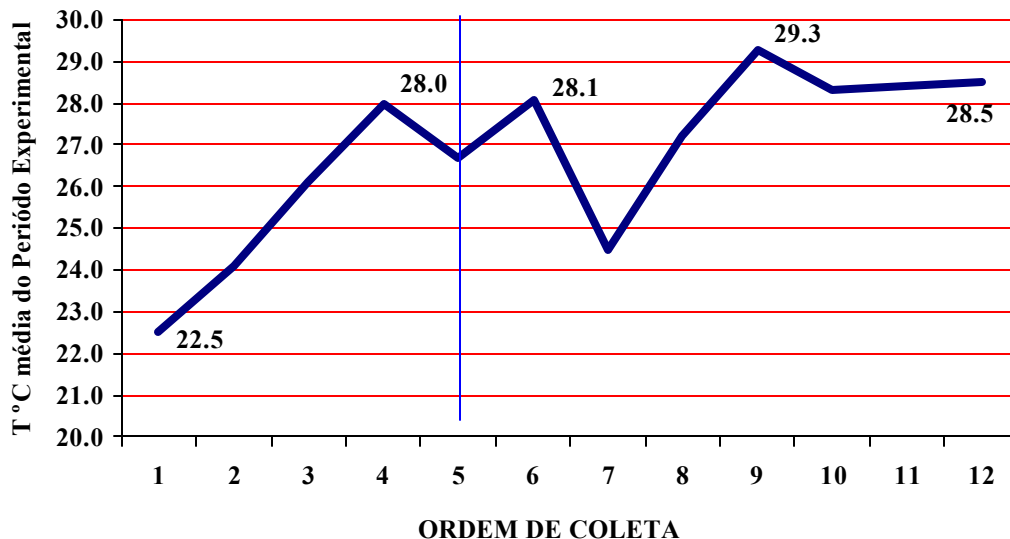


Figura 2 - Variação da temperatura máxima ambiente durante o período experimental. Período 1 vai até a quinta coleta. O período 2 vai da sexta até a 12^a coleta.

A média da temperatura máxima ambiente obtida durante o período experimental foi de $25,5 \pm 2,2^{\circ}\text{C}$ no Período 1 (até a 5^a coleta) e $27,8 \pm 1,6^{\circ}\text{C}$ no Período 2 (a partir da 6^a coleta). Entretanto, observou-se um acentuado aumento na temperatura, de $22,5^{\circ}\text{C}$ no início do experimento para $29,3^{\circ}\text{C}$ no período 2. A temperatura média do ambiente observada no período 2 pode ter sido estressante para os animais, e ter interferido na homeotermia e, conseqüentemente, na espermatogênese.

3.4. Biometria testicular e comportamento sexual

As mensurações do perímetro escrotal (cm) foram realizadas antes das coletas de sêmen, por um mesmo técnico, na porção de maior diâmetro

do escroto, utilizando-se uma fita métrica milimetrada específica para mensuração testicular.

O comportamento sexual foi avaliado pela medida do tempo de reação (período de tempo de liberação do bode para monta até a 1ª ejaculação) e pelo registro do número de saltos durante o tempo de reação. Padrões de comportamento como cortejo com a pata, reflexo de *flêmen*, exposições da língua e do pênis também foram registradas durante as fases de tempo de reação, em todos os dias de coleta de sêmen, e foram expressas em forma de intensidade, sendo: + (manifestação suave) quando o animal apresentou até dois padrões de comportamento por curto espaço de tempo até o ejaculado, ++ (manifestação moderada) quando o animal apresentou acima de dois padrões de comportamento por curto espaço de tempo até o ejaculado, e +++ (manifestação intensa) quando o animal apresentou um ou mais padrões de comportamento por longo período de tempo até o ejaculado.

3.5. Coleta e avaliação do sêmen para exame físico

As coletas de sêmen foram realizadas três vezes por semana, em dias alternados, das 07:00 às 10:00 h, pelo método da vagina artificial com água aquecida entre 42°C e 44°C, tendo como manequim uma fêmea em estro, induzida pela aplicação de 1,0 mg de benzoato de estradiol (Estrogin - Farmavet) no primeiro dia e 0,5 mg sempre que a fêmea ficava menos receptiva ao macho. Para cada dia de coleta, utilizaram-se dois machos de cada raça e de idades similares, alternando-se a ordem de coleta dos animais para evitar o efeito da estimulação visual sobre as características seminais e comportamentais (PRICE et al., 1985; SIGNORET et al., 1990). O ejaculado foi coletado em tubos graduados, protegidos da luz solar com papel laminado, e acondicionados em isopor, a fim de manter a temperatura do recipiente em 37°C durante a coleta.

Após a coleta, o sêmen foi enviado para o laboratório de processamento e colocado em banho-maria, à temperatura de 37°C, quando

se realizou o exame físico do ejaculado (volume, aspecto, turbilhonamento, vigor e motilidade espermática progressiva).

O volume do ejaculado foi verificado por visualização direta do sêmen no tubo de centrífuga graduado e registrado em mililitros (mL), e o turbilhonamento (escala de 0-5) foi avaliado pela observação ao microscópio em objetiva de 10×, de uma gota de sêmen sobre uma lâmina pré-aquecida em mesa aquecedora a 37°C. O vigor (escala de 0-5) e a motilidade espermática progressiva (0-100%) foram avaliados pela observação de uma gota de sêmen entre lâmina e lamínula em objetiva de 40×, tal como preconizado pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal - CBRA (1998). Para o cálculo da concentração espermática, empregou-se a câmara de Neubauer, com sêmen diluído na proporção de 20 microlitros para 4,0 mL de solução de formol-salina tamponada (1:200) (HANCOCH, 1957). O número total de espermatozóides no ejaculado foi obtido, multiplicando-se o volume de sêmen ejaculado (mL), pela concentração espermática/mL.

Após os exames físicos, os ejaculados foram destinados às etapas de processamento de congelamento.

3.6. Exame morfológico e teste hiposmótico (HOST)

A fim de se verificar as anormalidades de cabeça, acrossoma, peça intermediária e cauda dos espermatozóides, bem como a presença de gota citoplasmática proximal ou distal, foram adicionados 20µL de sêmen fresco de cada ejaculado em 1 mL de solução de formol-salina tamponada, conforme HANCOCH (1957). Uma gota dessa solução foi examinada em preparação úmida, entre lâmina e lamínula, utilizando-se microscópio com contraste de fase acoplado, com aumento de 1.000 vezes, contando-se 200 células espermáticas, e o resultado foi expresso em porcentagem de defeitos maiores, menores e totais. Esse procedimento foi realizado para todos os ejaculados (BLOM, 1973).

A integridade da membrana plasmática foi avaliada em todas as partidas de sêmen fresco e congelado, por meio do Teste Hiposmótico (HOST), utilizando-se 1,0 mL de uma solução com frutose na osmolaridade de 60 mosmol, acrescida de 0,1 mL de sêmen. Essa osmolaridade foi escolhida com base nos resultados obtidos por KUMI-DIAKA (1993) e BUENO (2000), trabalhando com sêmens de cães. Essa solução foi incubada em banho-maria, a 37°C por uma hora, e, após esse período, uma amostra foi colocada entre lâmina e lamínula pré-aquecida, a 37°C, contando-se 200 espermatozóides, em microscopia de contraste de fase, com aumento de 1.000 vezes. As células foram classificadas quanto a presença ou não de cauda fortemente dobrada ou enrolada e somente dobrada ou enrolada (%), que foram uniformizadas para cauda dobrada.

3.7. Congelamento de Sêmen

Após o exame físico do ejaculado, o sêmen foi centrifugado duas vezes, a 200 g (gravidade) durante 10 minutos, usando-se a solução de lavagem Ringer-Lactato na proporção de 1:9, descartando-se o sobrenadante. Em seguida, o pelet foi resuspendido com diluente à base de Tris-citrato-gema de ovo sem glicerol, na proporção de 1:1, e então foram avaliados motilidade progressiva espermática, vigor espermático por meio de microscopia em aumento de 200 a 400 vezes, e concentração espermática, por meio da contagem em câmara de Neubauer. Após o cálculo do número de doses (100 milhões de espermatozóides/dose), adicionou-se metade do diluente (sem glicerol), e após sua homogeneização, foi colocado em freezer estabilizado a 4°C, durante 2h (curva de resfriamento de 1,07°C/min nos primeiros 30 minutos + 1,5 hora à temperatura de 4°C) (BARBOSA, 1999). Ao final do período de resfriamento foi acrescentada a outra metade diluente (8% de glicerol) resfriado a 4°C, obtendo-se a concentração final de 4% do crioprotetor.

O sêmen foi envasado em palhetas de 0,5 mL, resfriado a 4°C, as quais foram colocadas horizontalmente sobre vapor de nitrogênio líquido

(cinco cm da superfície líquida) durante 15 minutos, e, em seguida, mergulhados em nitrogênio a -196°C .

O diluente TRIS foi preparado de acordo com ROBERTS (1986), modificado.

Solução-Padrão

2,42 g de Tris
1,50 g de Ácido cítrico monohidratado
1,25 g de Glicose
0,0134 g de sulfato de estreptomicina
0,0578 g de Penicilina G sódica
100 mL água tridestilada (q.s.p)

Solução A1

Solução-Padrão
25 mL de gema de ovo
Sem Glicerol

Solução A2

Solução-Padrão
25 mL de gema de ovo
08 mL Glicerol

3.8. Descongelamento do sêmen, teste de termorresistência e integridade do acrossoma

As amostras do sêmen foram descongeladas a 37°C por 50 segundos, e avaliadas quanto a motilidade e o vigor espermático. Todas as partidas, inclusive as que não obtiveram o mínimo de 30% de motilidade e três de vigor pós-descongelamento, conforme preconizado pelo CBRA (1998), foram submetidas ao teste de termorresistência lento (TTR).

Para a realização do TTR, adotou-se o protocolo preconizado pelo CBRA (1998), onde as partidas de sêmen foram descongeladas a 37°C e a condicionadas em tubos *Eppendorf*, cobertas com uma gota de óleo mineral

pré-aquecido, e incubadas a 37°C durante um período de 2h. Posteriormente, foram avaliados a motilidade e o vigor espermático por meio de microscopia com contraste de fase acoplado, em aumento de 200 e 400 vezes nos tempos zero, após cinco minutos, e a cada hora após o descongelamento.

A avaliação de danos acrossomais (edema e desprendimento parcial e total de acrossoma) foi realizada no início e no final do TTR. Para tanto, uma amostra do sêmen descongelado (100 µL) foi acondicionada em tubo de *Eppendorf*, com solução de formol salina tamponado (HANCOCK, 1957) e, posteriormente, na ocasião do exame, confeccionou-se a preparação úmida da amostra de sêmen entre lâmina e lamínula, e a avaliação acrossomal procedeu-se por meio de microscopia com contraste de fase em aumento de 1.000 vezes e imersão, de acordo com o preconizado por SODERQUIST et al. (1997). O percentual de anormalidade acrossomal foi feito sobre a contagem de 200 células espermáticas, computando os acrossomas intactos e anormais.

3.9. Análises estatísticas

Utilizou-se delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 X 2 X 2 (2 raças, 2 idades e 2 períodos). As análises foram processadas pelo Statistical Analysis System, versão 6.12, (1998; SAS), segundo o modelo :

$$y_{ijkl} = \mu + R_i + I_j + P_k + RI_{ij} + RP_{ik} + IP_{jk} + RIP_{ijk} + e_{ijkl}$$

y_{ijkl} = Observação no animal l , no período k , na idade j da raça i ;

μ = Média geral;

R_i = Efeito da raça i , $i = 1,2$;

I_j = Efeito da idade j , $j = 1,2$;

P_k = Efeito do período k , $k = 1,2$;

RI_{ij} = Efeito da interação Raça x Idade;

RP_{ik} = Efeito da interação Raça x Período;

IP_{jk} = Efeito da interação Idade x Período;

RIP_{ijk} = Efeito da interação Raça x Idade x Período;

e_{ijk} = erro associado a cada observação $ijkl$.

Para as características do teste de termorresistência e integridade do acrossoma, em que o período não tem efeito, foi usado o delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 X 2 (2 raças e 2 idades). As análises foram processadas pelo pelo Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas 8.0 (1995; SAEG), segundo o modelo:

$$y_{ijk} = \mu + R_i + I_j + RI_{ij} + e_{ijk}$$

y_{ijk} = Observação no animal k na idade j da raça i ;

μ = Média geral;

R_i = Efeito da raça i , $i = 1,2$;

I_j = Efeito da idade j , $j = 1,2$;

RI_{ij} = Efeito da interação Raça x Idade;

e_{ijk} = erro associado a cada observação ijk .

As médias das características foram testadas pelos Teste Fisher (Teste F; duas comparações) e Teste Student-Newman-Keuls (Teste SNK; comparações múltiplas), processadas pelo SAS 6.12 (1998) e pelo SAEG 8.0 (1995), com nível de probabilidade de cinco por cento. Foram realizadas correlações de Pearson entre os testes *in vitro* aplicados às amostras de sêmen, processados pelo SAEG 8.0.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Comportamento sexual

Os valores médios mensurados para as manifestações das características comportamentais são apresentados na Tabela 2. Houve diferença com relação ao tempo de reação entre jovens e adultos ($P < 0,05$).

Tabela 2 - Características comportamentais em animais das raças Alpina e Saanen em idades jovens e adultos confinados

Tempo	Nº de	Cor	Ref	Expo	Exp
-------	-------	-----	-----	------	-----

	Reação (segundos)	Saltos por sessão de coleta	tejo da fêmea	lex o de Flê me n	sição da Língua a	osição ão do Pênis
Al pi na						
Jovens	25,7 ± 14,9 ^b	1,4 ± 0,7	+	++	+	++
Adultos	75,5 ± 67,9 ^a	1,5 ± 1,3	++	++	+++	+++
Sa an en						
Jovens	28,6 ± 9,7 ^b	1,1 ± 0,4	+	+	+	+
Adultos	48,8 ± 28,6 ^a	1,2 ± 0,6	++	+++	+++	++

^{a,b} Médias seguidas pela mesma letra na mesma coluna, não diferem entre si, SNK (P < 0,05). + (manifestação suave), ++ (manifestação moderada), +++ (manifestação intensa).

Os animais jovens demonstraram maior libido que os adultos, considerando-se o menor tempo de reação. Isto pode ser atribuído à menor experiência sexual e à maior excitação do animal jovem, que se estimulava (exposição de pênis, micção) antes de ser apresentado à fêmea em estro, estando, neste caso, as atenções do animal mais voltadas para a realização da monta que para a exibição de comportamentos pré-coitais que teriam por objetivo testar a receptividade ao ato sexual pela fêmea. Resultados

similares também foram observados por PRICE et al. (1985), FRASER (1980) e FIGUEIREDO (1991).

O tempo de reação encontrado neste estudo foi inferior ao observado por ROCA et al. (1991), com tempos de reação de 129 e 106 segundos para as idades de 9-10 meses e 21-22 meses, respectivamente. A diferença numérica observada nos valores dos dois experimentos pode ser atribuída à intensidade dos efeitos da estação do ano (temperatura, umidade, fotoperíodo, etc.) sobre a libido, visto que há evidência de que caprinos criados em países europeus manifestam maior variação nos parâmetros reprodutivos entre as estações reprodutivas e não-reprodutivas que caprinos dos países de clima equatorial (KARATZAS et al. 1997).

Nas condições climáticas da Índia, SINHA et al. (1981) encontraram valores similares para animais da raça Jamunapari divididos em dois grupos de idade (entre dois e três anos e abaixo de dois anos) não sendo observada diferença no tempo de reação entre as duas idades.

O número de saltos por coleta não foi afetado pela idade, tampouco pela raça (Tabela 2).

Houve variação na frequência de manifestação das características de cortejo, flêmen, exposição da língua e do pênis, tanto entre raças quanto entre idades (Tabela 2). Mesmo assim, em todas as manifestações, verificou-se maior intensidade para os animais adultos, provavelmente, em razão da experiência sexual, ocasionando o maior tempo de reação. Isto permitiu aos animais adultos testarem a receptividade da fêmea em estro, antes de realizar a monta. Da mesma forma, a menor frequência de manifestação de algumas características (flêmen, exposição da língua) nos animais jovens pode ser atribuída à maior avidez em realizar a cópula, ocasionando o menor tempo de reação observado.

4.2. Biometria Testicular

Os valores médios para perímetro escrotal, em ambas as idades e raças, são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Valores médios para perímetro escrotal em caprinos das raças Alpina e Saanen, em duas faixas etárias

	Perímetro Escrotal (cm)				G e r a l
	Alpina		Saanen		
	Jovens	Adultos	Jovens	Adultos	
Período 1	26,9 ± 0,6	33,4 ± 0,8	28,2 ± 0,9	33,2 ± 1,5	30 , 5 4 c
Período 2	27,9 ± 0,9	33,9 ± 0,4	29,5 ± 1,2	34,2 ± 1,0	31 , 4 3 d
Médias Gera	27,3 ± 0,9 ^{B,b}	33,6 ± 0,7 ^{A,a}	28,7 ± 1,2 ^{B, a}	33,6 ± 1,4 ^{A,a}	

^{A,B, a,b} Médias seguidas pela mesmas letras sobscritas na mesma linha não diferem entre si, SNK (P < 0,05). Letras minúsculas comparam idade entre raças e letras maiúsculas comparam idade dentro de raça.

^{c,d} Médias seguidas pelas mesmas letras sobscritas, na mesma coluna, não diferem entre si, Teste F (P < 0,05).

Os animais jovens, tanto da raça Alpina quanto Saanen tiveram menores perímetros escrotais que os adultos da mesma raça, e os animais jovens da raça Alpina tiveram menor perímetro escrotal que os jovens da raça Saanen ($P < 0,05$), o que mostra, possivelmente, maior precocidade dos animais da última raça sobre os da primeira, se se pode extrapolar que o perímetro escrotal é uma característica importante para a precocidade e também para o volume de ejaculado. Esta diferença pode ser atribuída, provavelmente, ao processo de seleção mais intenso (precocidade em ganho de peso, produção de leite e reprodução), sofrido pela raça Saanen ao longo de décadas. Machos da raça Saanen são, em média, 10 cm maiores e 10 kg mais pesados que os machos da raça Alpina, sexualmente maduros (EMBRATER/COPER, 1984), o que contradiz os resultados da presente pesquisa, cujos perímetros escrotais nos adultos não diferiram entre si ($P < 0,05$). O desenvolvimento do tamanho testicular está correlacionado com o crescimento corporal e com a idade (BONGSO et al., 1982; AHMAD e NOAKES, 1996; BECKER-SILVA et al.; 2000).

Neste estudo, a correlação da idade com o perímetro escrotal foi de $r = 0,92$ e os animais jovens da raça Alpina, mesmo sendo 1,4 meses mais velhos que os da raça Saanen na mesma categoria (jovem), tiveram perímetro escrotal menor ($P < 0,05$). Esta influência da idade sobre a raça Alpina pode ser reflexo de um padrão racial ainda não bem definido, tendo em vista suas diversas variedades e origens (EMBRATER/COPER, 1984).

O perímetro escrotal encontrado neste estudo foi superior às médias encontradas em estudos anteriores, entre 19,4 e 28,7 cm para animais das raças Saanen (BONGSO, 1982; AHMAD e NOAKES, 1996); Malabari (BILASPURI e SINGH, 1992); e Alpina com uma variação de 21,0 a 31,0 cm (VILAR FILHO et al., 1993b; AHMAD e NOAKES, 1996), o que mostra uma grande variação no perímetro escrotal influenciado pela raça, idade e pelas diferenças individuais dos animais.

A atividade sexual em caprinos é sazonal e relacionada com as mudanças no fotoperíodo. Nos machos, a sazonalidade é expressa por meio

de mudanças marcantes no tamanho testicular, na concentração do hormônio luteinizante (LH) e de andrógenos (DELGADILLO e CHEMINEAU, 1992). Como apresentado na Tabela 3, o perímetro escrotal aumentou de 30,54 cm no período 1 para 31,43 cm no período 2 ($P < 0,05$). Isso pode ter sido efeito da condição ambiental do Período 1 sobre essa característica do macho caprino. Dados semelhantes foram relatados por WALD et al. (1988), que registraram variação no perímetro escrotal de 24,74 cm para 26,16 do final da primavera até o inverno, em animais da raça Saanen criados no Rio Grande do Sul.

4.3. Características seminais

Os valores médios para as características seminais registrados para ambas as raças e faixas etárias estão sumarizados na Tabela 4.

Tabela 4 - Características seminais de reprodutores das raças Alpina e Saanen, jovens e adultos, após manejo artificial do fotoperíodo

	ALPINA		SAANEN	
	Jovens	Adultos	Jovens	Adultos
Volume (mL)	0,6 ± 0,3 ^{A,a}	0,8 ± 0,3 ^{A,b}	0,4 ± 0,2 ^{B,b}	1,1 ± 0,4 ^{A,a}
Turbilhonamento (0 – 5)	4,5 ± 0,7 ^{A,a}	3,9 ± 0,6 ^{B,a}	4,5 ± 0,5 ^{A,a}	2,6 ± 1,3 ^{B,b}
Motilidade (%)	87,5 ± 7,5 ^{A,a}	84,8 ± 7,5 ^{A,a}	85,0 ± 7,7 ^{A,a}	73,6 ± 11,9 ^{B,b}
Vigor (0 – 5)	4,9 ±	4,9 ±	4,8 ±	4,5 ±

	0,3 ^{A,a}	0,3 ^{A,a}	0,46 ^{A,a}	0,7 ^{B,b}
Concentração total	1,7 ±	2,4 ±	1,3 ±	3,0 ±
(x10 ⁹)	1,2 ^{B,a}	1,5 ^{A,a}	0,9 ^{B,a}	1,7 ^{A,a}
Defeitos Maiores	4,9 ±	7,2 ±	6,5 ±	17,4 ±
(%)	2,6 ^{B,a}	4,2 ^{A,a}	5,0 ^{B,b}	17,5 ^{A,b}
Defeitos Menores	9,7 ±	12,1 ±	4,9 ±	10,2 ±
(%)	9,6 ^{A,a}	8,7 ^{A,a}	4,4 ^{A,a}	10,6 ^{A,a}
Defeitos Totais	14,1 ±	19,3 ±	11,5 ±	27,8 ±
	10,8 ^{B,a}	9,9 ^{A,a}	7,5 ^{B,a}	26,5 ^{A,a}

^{A,B, a,b} Médias seguidas pela mesmas letras sobrescritas na mesma linha não diferem entre si, SNK (P < 0,05). Letras minúsculas comparam idade entre raças, e letras maiúsculas comparam idade dentro de raça.

Houve interação entre raça e idade nos animais da raça Saanen, quanto ao volume seminal, sendo que os animais jovens tiveram menor volume seminal que os adultos (P < 0,05). KOUTSOURIS e ELEFTERIOU (1990) citaram que animais da raça Saanen são mais sensíveis às mudanças da estação do ano e fotoperíodo, quando comparado a outras raças. Portanto, os valores encontrados neste estudo podem provenientes da maior sensibilidade dos animais jovens ao tratamento de luz artificial. Isto pode ter sido reflexo de maior bloqueio no eixo hipotalâmico – hipofisário – gonadal, levando, conseqüentemente, à menor produção de andrógenos, acarretando redução na estimulação das glândulas sexuais acessórias, redução na produção de plasma seminal e, dessa forma, menor volume do ejaculado.

Também, o maior volume de sêmen nos animais adultos da raça Saanen, comparado aos jovens da mesma raça, pode ter sido provocado pelo maior tempo de reação desses animais, com maior estimulação das glândulas sexuais acessórias e, conseqüentemente, maior volume do ejaculado (ALMQUIST, 1973). E, o maior perímetro escrotal apresentado por este mesmo grupo de animais pode refletir em maior número de células de Leydig, maior produção de testosterona, levando ao maior desenvolvimento das glândulas sexuais acessórias, aumento da produção de plasma seminal e, assim, maior volume do ejaculado (MIYAMOTO et al.,

1987; DELGADILLO e CHEMINEAU, 1992). Ressalta-se, ainda, a alta correlação entre perímetro escrotal e volume do ejaculado observada no presente estudo ($r = 0,70$).

Os resultados obtidos neste estudo para o volume do ejaculado são similares aos encontrados na literatura, com valores variando de 0,7 e 1,1 mL para a raça Saanen e de 0,6 e 1,3 mL para a raça Alpina, dentro e fora da estação reprodutiva, respectivamente (KARATZAS et al., 1997).

Os animais adultos apresentaram menor turbilhonamento que os animais jovens, e os adultos da raça Saanen foram inferiores aos adultos da raça Alpina ($P < 0,05$). O menor valor encontrado para esses animais decorreu, provavelmente, do maior volume de sêmen ejaculado, visto que o volume e o turbilhonamento tiveram uma correlação entre si de $r = -0,41$. Tais observações são confirmadas por HAFEZ (1897).

A motilidade do sêmen dos reprodutores adultos da raça Saanen foi inferior aos adultos da raça Alpina e os jovens de mesma raça ($P < 0,05$). Provavelmente, a causa principal da menor motilidade pode ser atribuída à maior porcentagem de patologias espermáticas ($r = -0,74$), principalmente cauda dobrada com gota e cauda fortemente dobrada ou enrolada, que representaram, aproximadamente, 75% das patologias espermáticas para os machos Saanen adultos, influenciando, assim, sua motilidade espermática.

A concentração espermática total foi influenciada pela idade, sendo que os animais jovens tiveram menor concentração total que os adultos ($P < 0,05$). Isso pode ser atribuído ao maior perímetro escrotal encontrado para os adultos. Independente da raça dos reprodutores, o maior perímetro escrotal implica no maior volume de tecido testicular que, por sua vez, representa maior volume de células espermáticas e, conseqüentemente, maior reserva gonadal (DAUDU, 1984). Dados similares foram citados na literatura, variando de 1,69 a $4,7 \times 10^9$ espermatozóides para as raças Alpina e Saanen, dentro e fora da estação reprodutiva, respectivamente (VILAR FILHO et al., 1993b; KARATZAS et al., 1997).

Quanto à porcentagem de defeitos maiores, houve diferença entre raças e idades ($P < 0,05$), sendo que os animais jovens apresentaram menos

patologias que os animais adultos para as duas raças estudadas. A menor porcentagem de patologia observada nos animais jovens pode ser proveniente da menor quantidade de espermatozoides epididimários no início das coletas e, com isso, a renovação mais rápida dos espermatozoides. A porcentagem de patologia diminuiu no decorrer do experimento e, também, pode ser por causa da maior frequência de sodomismo e masturbação nos animais jovens e, conseqüentemente, ausência de repouso sexual¹. Vale ressaltar que a porcentagem de patologia encontrada para os animais adultos da raça Saanen foi, na sua maioria, devido a um dos machos, que apresentou alto nível de patologia (cauda fortemente dobrada ou enrolada e cauda dobrada com gota) no início do experimento comparado com final do experimento, elevando a média do grupo. Mesmo assim, foram estudados juntos porque se atribuiu ao repouso sexual ou estacionalidade reprodutiva o motivo da elevada porcentagem de patologias.

A maior porcentagem de anormalidades espermáticas foi verificada nos animais adultos da raça Saanen, com predomínio de cauda fortemente dobrada ou enrolada e cauda dobrada com gota (75%). Excetuando-se os animais da raça Saanen adultos, o total de anormalidades encontra-se dentro dos limites citados na literatura, de 17,2% para animais de 8 a 9 meses de idade e 15,0% para animais acima de dois anos (HIBBERT et al., 1986).

A média do perímetro escrotal, volume e concentração do sêmen dos animais da raça Alpina e Saanen em dois períodos experimentais se encontram na Tabela 5.

Tabela 5 - Perímetro escrotal, volume e concentração do sêmen em caprinos das raças Alpina e Saanen jovens e adultos em dois períodos experimentais

Alpina	Saanen
--------	--------

¹ Informação obtida em conversa informal com o Professor José Domingos Guimarães (LRA-DVT-UFV).

	Jovens		Adultos		Jovens		Adultos	
	Pe	Pe	Pe	Pe	Pe	Pe	Pe	Pe
	rio	rio	rio	rio	rio	rio	rio	rio
	do	do	do	do	do	do	do	do
	1	2	1	2	1	2	1	2
Perímetro	26,	27,	33,	33,	28,	29,	33,	34,
escrotal	9	9	4	9	0	5	2	2
(cm)	±	±	±	±	±	±	±	±
	0,6	0,9	0,8	0,4	0,9	1,2	1,5	1,0
	a	b	a	b	a	b	a	b
	0,6	0,5	0,7	0,8	0,3	0,4	0,9	1,3
Volume	4	8	5	4	7	2	±	±
(mL)	±	±	±	±	±	±	0,4	0,3
	0,3	0,3	0,3	0,4	0,1	0,3	a	a
	a	a	a	a	a	a		
Concentração	1,7	1,7	2,1	2,7	1,2	1,5	2,9	3,0
total	0	5	2	1	0	1	5	5
(x10 ⁹)	±	±	±	±	±	±	±	±
	1,3	1,2	1,0	1,9	0,9	0,9	2,2	1,1
	a	a	a	a	a	a	a	a

^{a,b} Médias seguidas pela mesma letra sobrescritas, na mesma linha dentro de cada grupo de idade, não diferem entre si, Teste F (P < 0,05).

De modo geral, o perímetro escrotal dos reprodutores aumentou do período 1 para o período 2, mostrando que o tratamento com a luz artificial determinou o aumento do perímetro escrotal e pode ter, indiretamente, iniciado o restabelecimento da atividade sexual dos animais (Tabela 5), muito embora não tenham sido encontradas diferenças entre o volume seminal e a concentração total de espermatozoides nos dois períodos. A média geral de anormalidade morfológica do sêmen decresceu de 20,05 no período 1 para 16,44% no período 2. Quanto ao vigor espermático médio, foi observado um aumento de 4,64 para 4,94 do período 1 para o período 2 (P < 0,05). Esta melhoria pode ser pela alteração no padrão de secreção da melatonina pineal, com aumento da secreção de LH e testosterona, conforme resultados de MUDUULI et al. (1979), MIYAMOTO et al. (1987) e DELGADILLO e CHEMINEAU (1992).

4.4. Congelamento do sêmen

Teste de Termorresistência (TTR)

A motilidade espermática progressiva e o vigor espermático nas diferentes etapas de processamento do sêmen, nas duas raças e idades, estão sumarizados na Tabela 6. Correlações de Pearson entre a motilidade espermática progressiva e o vigor espermático, durante o processo de congelamento e descongelamento do sêmen (TTR) são apresentados na Tabela 7.

Tabela 6 - Motilidade (Mot.) espermática progressiva e vigor espermático durante o processo de congelamento e descongelamento (TTR) do sêmen dos animais das raças Alpina e Saanen nas idades jovem e adulta

	RAÇA ALPINA		RAÇA SAANEN	
	Jovens	Adultos	Jovens	Adultos
Mot. Sêmen		77,18 ±		69,64 ±
diluído (%)	83,0 ± 11,1 ^{A,a}	17,02 ^{B,a}	83,5 ± 7,0 ^{A,a}	17,37 ^{B,a}
Vigor (0 – 5)	4,75 ± 0,44 ^{A,a}	4,43 ± 0,65 ^{B,a}	4,6 ± 0,48 ^{A,a}	4,17 ± 0,72 ^{B,a}
Mot. Sêmen				56,07 ±
resfriado (%)	76,8 ± 14,8 ^{A,a}	69,7 ± 16,6 ^{B,a}	79,2 ± 9,7 ^{A,a}	18,31 ^{B,a}
Vigor (0-5)	4,5 ± 0,6 ^{A,a}	4,15 ± 0,67 ^{B,a}	4,4 ± 0,7 ^{A,a}	3,7 ± 0,82 ^{B,a}
0,0 h				
Motilidade			37,1 ±	
(%)	43,4 ± 11,9 ^{A,a}	31,9 ± 14,0 ^{B,a}	15,4 ^{A,b}	26,9 ± 10,7 ^{B,b}
Vigor (0-5)	3,8 ± 0,4 ^{A,a}	2,8 ± 0,7 ^{A,a}	3,2 ± 0,8 ^{A,b}	2,8 ± 0,38 ^{B,a}
0,05 h				
Motilidade			35,9 ±	
(%)	39,4 ± 11,2 ^{A,a}	30,9 ± 13,9 ^{B,a}	15,6 ^{A,b}	24,23 ± 10,1 ^{B,b}
Vigor (0-5)	3,3 ± 0,5 ^{A,a}	2,6 ± 0,5 ^{B,a}	3,0 ± 0,8 ^{A,a}	2,6 ± 0,5 ^{B,a}

1,0 h				
Motilidade			30,6 ±	
(%)	36,9 ± 10,0 ^{A,a}	30,0 ± 12,4 ^{A,a}	14,9 ^{A,a}	20,76 ± 10,7 ^{A,a}
Vigor (0-5)	2,9 ± 0,7 ^{A,a}	2,6 ± 0,5 ^{B,a}	2,6 ± 0,9 ^{A,b}	2,38 ± 0,5 ^{B,b}
2,0 h				
Motilidade			24,8 ±	
(%)	32,2 ± 11,4 ^{A,a}	25,0 ± 10,5 ^{B,a}	15,5 ^{A,b}	18,9 ± 10,5 ^{B,b}
Vigor (0-5)	2,7 ± 0,7 ^{A,a}	2,3 ± 0,6 ^{B,a}	2,1 ± 0,9 ^{B,b}	2,1 ± 0,86 ^{B,b}

^{A,B, a,b} Médias seguidas pelas mesmas letras sobrescritas na mesma linha não diferem entre si, SNK (P < 0,05). Letras minúsculas comparam idade entre raças e letras maiúsculas comparam idade dentro de raça.

Tabela 7 - Correlações de Pearson entre a motilidade espermática progressiva e o vigor espermático, durante o processo de congelamento e descongelamento do sêmen (TTR)

Parâmetros	r*
Mot _C vs Mot. Sêmen diluído	0,64
Mot _C vs Mot. Sêmen resfriado	0,55
Mot _C vs TTR Motilidade 0,0 h	0,30
Mot _C vs TTR Motilidade 0,05 h	0,36
Mot _C vs TTR Motilidade 1,0 h	0,38
Mot _C vs TTR Motilidade 2,0 h	0,45
Mot _{0h TTR} vs TTR Motilidade 0,05 h	0,94
Mot _{0h TTR} vs TTR Motilidade 1,0 h	0,89
Mot _{0h TTR} vs TTR Motilidade 2,0 h	0,77

*Significativo (P < 0,05); Mot_c – Motilidade do sêmen avaliado após a coleta; Mot_{0 h TTR} – motilidade do sêmen avaliado logo após o descongelamento no TTR.

Durante o teste de termorresistência (TTR), tanto a motilidade espermática progressiva quanto o vigor apresentaram comportamento semelhante: altos nas primeiras horas do teste, diminuíram nas horas intermediárias e, posteriormente, estabilizaram em valores baixos nas horas finais do teste. De forma semelhante, McLAUGHLIN et al. (1992) verificaram que o processo de criopreservação diminui a motilidade média dos espermatozoides em cerca de 40% dos valores iniciais, com redução

maior no sêmen de pior qualidade. A perda da motilidade espermática progressiva pode ter ocorrido tanto em função de danos na membrana, quanto da redução da motilidade que varia entre ejaculados.

A qualidade do sêmen diluído, resfriado e congelado foi influenciada pela idade ($P < 0,05$). A motilidade espermática progressiva do sêmen diluído e resfriado foi maior nos animais jovens que nos adultos, porém não houve efeito de raça, ou seja, os animais da raça Alpina não diferiram dos Saanen dentro da mesma idade. Também, o vigor se comportou de modo idêntico, ou seja, os animais jovens apresentaram melhor vigor ($P < 0,05$) que os adultos, mas não houve efeito de raça. Isso pode ser proveniente de os animais jovens (nas duas raças) apresentarem melhor motilidade desde o momento da coleta (Tabela 4). Também, por causa da correlação da motilidade espermática progressiva pós-coleta com a motilidade durante o processo de congelamento e descongelamento (Tabela 7) (BARNABE et al., 1981).

Também, de modo geral, durante todo o congelamento e descongelamento, o padrão de resposta foi similar com a motilidade e o vigor sendo maiores nos animais jovens que nos adultos sem efeito de raça. A menor motilidade encontrada para os animais adultos pode ser atribuída ao volume seminal, que teve correlação negativa ($r = - 0,27$) com o congelamento do sêmen neste estudo (motilidade avaliada no TTR após o descongelamento). FERRARI et al. (1998) encontraram valor 38,2% para a motilidade do sêmen congelado e descongelado em diluente à base de Tris, semelhante ao encontrado neste estudo.

Animais jovens da raça Alpina apresentaram melhor congelamento, o que pode ser atribuído a maiores motilidade e vigor espermático durante todo o período experimental. Ressalta-se que todos os animais produziram ejaculados congeláveis, aptos para uso em programas de inseminação artificial.

Houve correlações médias entre a motilidade do sêmen avaliado após a coleta com a motilidade avaliada durante o processo de congelamento e descongelamento, quando avaliadas no TTR, corroborando os resultados de

Corteel (1981) citado por MAIA E VIEIRA (1992). A correlação foi maior no sêmen diluído e diminuiu durante o resfriamento. Isto é esperado, já que o resfriamento e o congelamento têm o objetivo de reduzir o metabolismo e a motilidade do sêmen. Após o descongelamento, observou-se uma queda da correlação entre a motilidade à coleta e a motilidade no TTR à 0,0 h, e com o passar do tempo esta correlação teve um aumento pequeno mas progressivo, significando que os ejaculados que mantiveram maior motilidade no final do TTR, foram aqueles que tiveram alta motilidade espermática imediatamente após a coleta. Por outro lado, a alta correlação observada entre a motilidade do sêmen logo após o descongelamento (0,0 h) com as horas seguintes tiveram reflexos positivos sobre o TTR, mostraram que esta primeira observação (0,0 h) é suficiente para predizer a longevidade seminal.

Teste Hiposmótico (HOST)

Conforme apresentado na Figura 3, nas primeiras coletas de sêmen, a porcentagem média de caudas dobradas foi de 60% e tendeu a aumentar até a 4^a e 5^a coletas, chegando a valores médios de 70%. Esse perfil pode ser atribuído, provavelmente, ao fato de que, no início das coletas, os animais estavam vindo de um repouso sexual prolongado e, portanto, haviam muitos espermatozóides estocados na cauda do epidídimo, por períodos longos (repouso sexual), o que poderia comprometer a qualidade do sêmen. As coletas posteriores reduziram o tempo de estocagem dos espermatozóides nos epidídimos, diminuindo, assim, a porcentagem de defeitos da cauda do espermatozóide e, conseqüentemente, melhorando a qualidade seminal. Por outro lado, o tratamento com luz artificial pode ter levado ao aumento nas concentrações de testosterona, estimulando tanto a espermatogênese quanto as glândulas sexuais acessórias e, conseqüentemente, a produção de plasma seminal de melhor qualidade (MUDUULI et al., 1979; MIYAMOTO et al., 1987; DELGADILLO e CHEMINEAU, 1992).

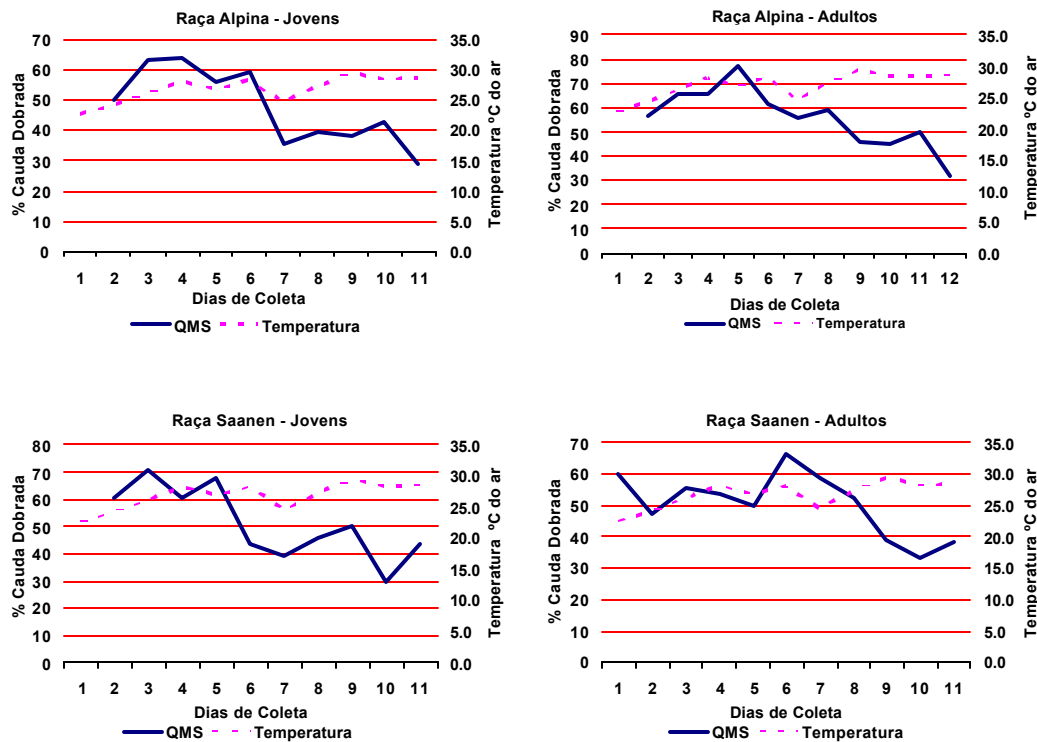


Figura 3 - Qualidade da membrana dos espermatozóides (QMS) avaliada por meio do Teste hiposmótico (HOST), nos diferentes dias de coletas e temperatura máxima do ar durante as coletas.

A partir da quarta e quinta coletas (final do Período 1 e início do Período 2), observou-se queda na porcentagem de caudas dobradas, ou seja, aumento de espermatozóides com problemas de membrana plasmática, que coincide com a elevação da temperatura máxima ambiental. Essa

porcentagem continuou caindo com a manutenção da temperatura próxima a 30°C. Esse comportamento foi observado em todos os grupos estudados (Figura 3). Portanto, nota-se sensibilidade dos animais das raças Saanen e Alpina à elevação da temperatura ambiental, quanto à integridade da membrana espermática, visto o comportamento similar entre as raças. Por isso, outros estudos devem ser feitos para avaliar o efeito da temperatura sobre a qualidade da membrana espermática (pelo HOST) de caprinos das raças Saanen e Alpina de diferentes idades.

Os efeitos deletérios da temperatura sobre a qualidade da membrana espermática foram caracterizados em outros estudos, onde a temperatura ambiental elevada teve efeito negativo sobre a qualidade espermática (KARABINUS et al., 1997; HUANG et al., 2000). Neste estudo, a temperatura média de 27,8°C, encontrada no período 2, embora insuficiente para provocar alterações do volume, concentração e morfologia espermática até o término do experimento, o foi para provocar imediatas alterações na integridade da membrana, provavelmente, por alterar e, conseqüentemente, afetar a integridade da membrana plasmática dos espermatozoides (Tabela 8).

Segundo AITKEN (1995), alto conteúdo de ácidos graxos insaturados é requerido para fornecer à membrana plasmática do espermatozoide a fluidez necessária para participar dos eventos associados com a fertilização. Como conseqüência do estresse oxidativo, a membrana plasmática perde sua fluidez e integridade, resultando na perda de sua função. A atividade de enzimas ligadas à membrana é também interrompida pela perda da fluidez da membrana e, como conseqüência, o espermatozoide perde a sua capacidade de regular a concentração de íons intracelulares.

Os valores médios para o Teste hiposmótico (HOST) do sêmen a fresco, dos reprodutores das raças Alpina e Saanen, nos dois períodos, encontram-se na Tabela 8. Os valores médios para o Teste hiposmótico (HOST) de sêmen a fresco e congelado são apresentados na Tabela 9.

Tabela 8 - Valores médios da qualidade de membrana do espermatozóide pelo Teste hiposmótico (HOST) do sêmen a fresco de bodes das raças Alpina e Saanen, durante dois períodos experimentais consecutivos

	Alpina		Saanen		Média Geral
	Jovens	Adultos	Jovens	Adultos	
Período 1	57,6 ± 14,0 ^a	66,3 ± 9,9 ^a	60,7 ± 21,6 ^a	54,2 ± 10,2 ^a	59,7 ± 14,8 ^a
Período 2	37,9 ± 12,5 ^b	47,2 ± 15,0 ^b	41,6 ± 19,9 ^b	48,2 ± 19,2 ^b	43,7 ± 16,7 ^b

^{a, b} Médias seguidas pela mesma letra sobrescrita na mesma coluna não diferem entre si, Teste F (P <0,05).

Tabela 9 - Valores médios de qualidade da membrana do espermatozóide pelo Teste hiposmótico (HOST) de sêmen a fresco e congelado de bodes jovens e adultos das raças Alpina e Saanen

	Alpina		Saanen	
	Jovens	Adultos	Jovens	Adultos
SÊMEN FRESCO				
Cauda dobrada (%)	39,9 ± 13,7	43,1 ± 12,3	40,42 ± 14,5	40,1 ± 11,8
Cauda fort. Dobrada (%)	7,5 ± 6,5	14,05 ± 12,4	11,4 ± 11,2	12,13 ± 11,2
Total (%)	47,8 ± 16,4^a	57,2 ± 15,6^a	51,6 ± 22,5^a	51,3 ± 15,0^a
SÊMEN CONGELADO				
Cauda dobrada (%)	26,4 ± 6,8	31,7 ± 11,1	33,6 ± 11,4	26,8 ± 10,7
Cauda fort. Dobrada (%)	9,9 ± 5,6	7,9 ± 6,0	8,1 ± 5,1	6,2 ± 3,9
Total (%)	36,3 ± 10,6^b	39,8 ± 15,0^b	41,7 ± 14,5^a	33,0 ± 14,3^b

^{a, b} Médias seguidas pela mesma letra sobrescrita na mesma coluna em negrito) não diferem entre si, Teste F ($P < 0,05$).

Na análise em função do período, observou-se diferença na porcentagem de caudas enroladas entre o período 1 e 2 ($P < 0,05$), sendo que no período 1 houve maior porcentagem de caudas dobradas no sêmen a fresco que no período 2, para todos os grupos estudados. Provavelmente, as porcentagens médias de caudas dobradas seriam maiores, como as encontradas por SOUSA et al. (2000), que obtiveram valores de 85,2% de espermatozoides com cauda enrolada no sêmen a fresco de caprinos da raça Serrana, caso não houvesse influência da temperatura ambiental sobre a integridade da membrana plasmática seminal.

O resultado do teste HOST, tanto para o sêmen a fresco quanto congelado, não diferiu ($P > 0,05$) entre raças e idades (Tabela 9), mostrando assim um comportamento similar dentro de raças e idades.

Houve redução ($P < 0,05$) na porcentagem de espermatozoides íntegros, após o congelamento e descongelamento do sêmen dos animais da raça Alpina jovens e adultos e os adultos Saanen (Tabela 9).

Embora não tenha havido diferença entre a porcentagem de caudas dobradas do sêmen a fresco e o congelado dos animais jovens da raça Saanen, notou-se uma tendência de queda no sêmen congelado, podendo-se dizer que o congelamento e descongelamento afetaram negativamente a porcentagem de caudas dobradas.

A criopreservação é um processo estressante à célula espermática, e mostrou uma redução na qualidade de membrana de espermatozoide avaliada pelo HOST, para o sêmen congelado, maior que 14% em relação aos valores observados para o teste em sêmen a fresco.

Comparando esses resultados com os de outras espécies, observa-se que KUMI-DIAKA (1993), utilizando uma solução de 60 mosmol, encontrou porcentagem de 82,6% de caudas dobradas em sêmen fresco de cães e após o descongelamento obteve vabr de 56,7%, representando uma queda de 25,9% entre o sêmen fresco e o congelado. Também, NEILD et al. (1999), incubando sêmen fresco de eqüinos em solução de 50 mosmol,

obtiveram valores de 46,0% de caudas dobradas e, após o congelamento e descongelamento essa porcentagem caiu para 30,2% de caudas dobradas, uma diferença de 15,8% entre o sêmen fresco e o congelado.

A pequena redução encontrada neste estudo pode ser proveniente do excelente congelamento seminal, normalmente obtida na espécie caprina, independente da influência da temperatura sobre a qualidade da membrana.

Como visto na Tabela 9, houve maiores porcentagens de caudas dobradas em relação a caudas fortemente dobradas, mostrando que nem todos os espermatozoides respondem com a mesma intensidade ao HOST, o que é mostrado por BUENO (2000), quando afirma que os filamentos do axonema da cauda podem sofrer flexões em graus diferentes, dependendo da quantidade de água que entra na célula, visto que foram verificados diferentes tipos de enrolamento de cauda, incluindo desde pequena curvatura na ponta da cauda até cauda fortemente dobrada, e dobramentos intermediários.

Verificou-se queda de 10,7% e 17,9% de caudas dobradas entre o congelamento e o descongelamento do sêmen avaliados por meio do HOST para reprodutores jovens e adultos, respectivamente. A qualidade seminal foi sempre superior nos animais jovens. Ressalta-se que os animais adultos saíram de um repouso sexual prolongado, que implica na queda da qualidade seminal, e os animais jovens, dado o comportamento de masturbação, tinham suas reservas seminais constantemente renovadas.

No sêmen a fresco, não foi observada correlação entre a motilidade espermática progressiva e os valores do HOST, que pode ter sido influenciado pela elevada temperatura, ao longo do período experimental, provocando redução nos valores do HOST, porém, KUMI-DIAKA (1993) obteve correlação de $r = 0,94$ entre a motilidade do sêmen fresco com os valores do HOST. Já NEILD et al. (1999) encontraram correlação entre a motilidade do sêmen a fresco e o HOST ($r = 0,75$). Para o sêmen congelado foi encontrada correlação de $r = 0,53$ (motilidade avaliada no TTR a 0 hs) que é comparável à de $r = 0,57$, encontrada por NEILD et al. (1999).

Adicionalmente, a motilidade espermática progressiva mostrou maior sensibilidade à criopreservação que à integridade da membrana, indicando que a motilidade dos espermatozoides é mais afetada pelo processo de congelamento que a membrana plasmática.

Integridade do Acrossoma

Os valores médios para o percentual de acrossomas intactos e anormais, observados após o descongelamento e TTR encontram-se sumarizados na Tabela 10. Os danos acrossomais não diferiram entre os grupos de animais estudados.

Tabela 10 - Valores médios para anomalias do acrossoma após o descongelamento e ao final do Teste de Termorresistência em sêmen congelado / descongelado de reprodutores jovens e adultos das raças Alpina e Saanen

Hora após Descongelamento	ALPINA		SAANEN	
	Jovens	Adultos	Jovens	Adultos
0,0 h				
Normal	53,0 ±	57,0 ±	55,0 ±	55,8 ±
	11,7	10,1	9,3	6,5
Anormal	46,1 ±	43,0 ±	45,03 ±	44,2 ±
	11,9	10,1	9,2	6,5
2,0 h				
Normal	46,3 ±	45,2 ±	47,5 ±	44,5 ±
	9,0	7,8	11,7	7,9
Anormal	53,7 ±	54,8 ±	52,5 ±	55,5 ±
	8,9	7,8	11,7	7,9

A integridade do acrossoma não foi influenciada pelo descongelamento e nem pelo Teste de Termorresistência. Logo após o descongelamento do sêmen, as lesões de acrossoma foram altas (43% a 46%). Entretanto, esses índices de danos acrossomais (edema, desprendimento parcial e até perda total de acrossoma) são aceitáveis, tanto no pós-descongelamento como após o término do TTR. Em média, os valores encontrados foram de 50 % de lesões acrossomais de 0,0 e 2,0 horas após o descongelamento, enquanto TASSERON et al. (1977), MEMON et al. (1985), SODERQUIST et al. (1997) obtiveram valores semelhantes que variaram de 35% a 40%. Os valores ligeiramente superiores observados neste estudo podem estar associados aos efeitos do estresse térmico, sofrido pelos animais no período 2 e, de acordo com McNITT e FIRST (1970) e Rathore (1970) citados por MÜLLER (1989), o estresse térmico leva ao desprendimento do acrossoma.

5. CONCLUSÃO

Os reprodutores jovens possuem sêmen de melhor qualidade que os adultos quando fora da estação reprodutiva;

O tratamento com luz artificial fora da estação reprodutiva não afetou o volume nem a concentração espermática dos animais das raças Alpina e Saanen;

Os reprodutores adultos têm uma libido e características comportamentais mais lentas que os jovens;

A motilidade e o vigor espermático pós-descongelamento é melhor nos reprodutores da raça Alpina que os da Saanen, após o tratamento com luz artificial fora da estação reprodutiva;

O teste de termorresistência tem uma correlação baixa e positiva ($r = 30 - 45$) com a motilidade à coleta e uma alta correlação com a motilidade a 0h até 2,0 h após o descongelamento;

A integridade da membrana espermática diminui com a elevação da temperatura ambiente.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AAMDAL, J., LYGSET, O., FOSSUM, K. Toxic effect of lysolecithin on sperm. **Nord. Vet. Méd.**, v. 17, 633 – 634, 1965.
- AHMAD, N., NOAKES, D. E. Sexual maturity in british breeds of goat kids. **Br. Vet. J.**, v. 152, p. 93 – 103, 1996.
- AITKEN, R. J. Free radicals, lipid peroxidation and sperm function. **Reprod. Fertil. Dev.** v. 7, p. 659 – 668, 1995.
- AKUSU, M. O., AGIANG, E.A., EGBUNIKE, G. N. **Ejaculate and plasma characteristics of west African Bwarf (WAD) buck.** In: X Int. Congr. Anim. Reprod. A.I. Illinois, v. 2, 1984. abstract n. 50
- ALMQUIST, J. O. Effects of sexual preparation on sperm output, sêmen characteristics and sexual activity of beef bulls with a comparison to dairy bulls. **J. Anim. Sci.** v. 36, n. 2, p. 331 – 336, 1973.
- AMANN, R. P. Can the fertility potencial of a seminal sample be predict accurately? **J. of Androl.**, v. 10, n. 2, p. 89 – 98, 1989.
- ANGOLA, A. P. Aspectos fisiológicos acerca del congelamiento de sêmen. **Vet. Méx.**, v. 25, n. 3, p. 207 – 210, 1994.
- AZAWI, O. I., AL-DAHSAH, S. Y. A. Effect of different diluents on Shami goat semen. **Small Rumin. Res.**, v. 9, p. 347 – 352, 1993.
- BARBOSA, L. P. **Avaliação de diferentes diluentes e métodos de congelação de sêmen, em programas de inseminação artificial em caprinos da raça Alpina.** Viçosa: UFV. Faculdade de Veterinária, 1999. 71p. Tese (Mestrado em Veterinária).
- BARNABE, V.H., BARNABE, R.C., VISITIN, J.A. Estudo comparativo entre as provas rápidas e lenta de termo resistência para avaliação de sêmen congelado. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v. IV (3-4), p.7-11, 1981.
- BECKER-SILVA, S.C., MARQUES JÚNIOR, A. P., ANDRADE, P. V. D. **Sexual development in Saanen bucks from birth to 12 months old.**

- In: VII International Conference on Goats. França, 2000. p. 427– 429.
- BILASPURI, G. S., SINGH, K. Developmental changes in body weight and testicular characteristics in malabari goat kids. **Theriogenology**. v. 37, n. 2, p. 507 – 520, 1992.
- BLOM, E. The ultrastructure of some characteristic sperm defects and a proposal for a new classification of the bull spermogram. **Nord. Vet. Med.**, v. 25, p. 383 – 391, 1973.
- BONGSO, T. A., JAINUDEEN, M. R., ZAHRAH, A. S. Relationship of scrotal circumference to age, body weight and onset of spermatogenesis in goats. **Theriogenology**, v. 18, n. 5, p. 513 – 524, 1982.
- BORGES, A. M. **Dinâmica folicular e superovulação em novilhas mestiças tratadas com somatotropina bovina (rBST) e efeito da temperatura na qualidade dos embriões**. Viçosa: UFV. Faculdade de Zootecnia, 1999. 99p. Tese (Mestrado em Zootecnia).
- BUENO, R. **Criopreservação de sêmen canino, utilizando dois diluidores e dois protocolos de resfriamento**. Viçosa: UFV. Faculdade de Veterinária, 2000. 92p. Tese (Mestrado em Veterinária).
- BUFFINGTON, C. S., COLLAZO–AROCHO, A., CANTON, G. H. Black globe humidity confort index for dairy cows. St. Joseph: **ASAE**, 1977, 19p.
- CHENOWETH, P. J. Libido and mating behavior in bulls, boars and rams. A review. **Theriogenology**. v, 16, n. 2, p. 155 – 177, 1981.
- COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL - CBRA. **Manual para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal** (2 ed), Belo Horizonte, CBRA, 1998. 49p.
- CORTEEL, J. M. Viabilité des spermatozoides de boue conserves et congelés avec ou sans leur plasma seminal: effet du glucose. **Ann. Biol. Anim.** v. 14, n. 4-B, p. 741 – 745, 1974.
- CORTEEL, J. M., LEBOEUF, G., **Development and application of artificial insemination with deep frozen semen and out of season breeding of goats in France**. In: Proc. IV Int. Conf. Goats. Brasilia, v. 1, p. 523 – 547, 1987.
- CROSS, N. L., MEIZEL, S. Methods for evaluating the acrosomal status of mammalian sperm. **Biol. Reprod.**, v. 41, p. 635 – 641, 1989.
- CURTIS, S. E. **Environmental management in animal agriculture**. Ames, ISUP, 1983, 410 p.

- DAUDU, C. S. Spermatozoa output, testicular sperm reserve and epididymal storage capacity of the Sokoto goats Indigenous to northern Nigeria. **Theriogenology**, v. 21, n. 2, p. 317 – 324, 1984.
- DE LEEUW, A. M., DEN DAAS, J.H.G., WOELDERS, H. The fix vital stain method. **J. Androl.**, v. 12, p. 112 – 118, 1991.
- DELGADILLO, J. A., CHEMINEAU, P. Abolition of the seasonal release of luteinizing hormone and testosterone in Alpine male goats (*Capra hircus*) by short photoperiodic cycles. **J. Reprod. Fert.** v. 94, p. 45 – 55, 1992.
- DELGADILLO, J. A., CANEDO, G. A., CHEMINEAU, P., GUILLAUME, D., MALPAUX, B., Evidence for an annual reproductive rhythm independent of food availability in male Creole goats in subtropical northern Mexico. **Theriogenology**, v. 52, p. 727 – 737, 1999.
- DELGADILLO, J. A., LEBOEUF, B., CHEMINEAU, P. Decrease in the seasonality of sexual behavior and sperm production in bucks by exposure to short photoperiodic cycles. **Theriogenology**, v. 36, p. 755 – 770, 1991.
- DELGADILLO, J.A., LEBOEUF, B., CHEMINEAU, P. Abolition of seasonal variations in semen quality and maintenance of sperm fertilizing ability by photoperiodic cycles in goat bucks. **Small Ruminant Research**, v. 9, p. 47 – 59, 1992.
- DINIZ, M. L. **Activité oestrienne et progesteronemie chez la chevrette Alpine pendant la saison sexuelle qui sui as naissance: effet de l'introduction du male dans le troupeau** Paris, D.E.A. Université Pierre et Marie Curie, 1980.
- ELWISHY, A. B., ELSAWAF, S. A. Development of sexual activity in male Damascus goats. **Indian J. Anim. Sci.**, v. 41, n. 5, p. 350 – 56, 1971.
- EMBRATER/COPER, **Criação de cabras leiteiras**. Brasília: EMBRATER, 1984, 243p.
- FERRARI, S., LEINZ, F., BARNABE, V. H. Inseminação artificial em cabras com sêmen congelado: resultados preliminares. **Braz. J. Res. Anim. Sci** v. 35, n. 5, 1998. Abstract
- FIGUEIREDO, J. R. **Efeito da estimulação sexual sobre as características seminais e comportamento sexual de reprodutores caprinos da raça Saanen**. Viçosa: UFV, Faculdade de Zootecnia, 1991. 51p. Tese (Mestrado em Zootecnia).

- FRASER, A. F. **Farm Animal Behavior**. *London*: Baillière Tindal, 1980, 291p.
- FRESNO, M., ALVAREZ, S., DARMANIN, N., DELGADO, J. V., LEBOEUF, B., TERQUI, M. **Reproduction testis volume and semen production in Canarian goat**. VII International Conference on Goats. França, 2000. p. 439
- HAFEZ, E. S. E. **Reproduction in farm animals**. 5. ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1987, 720 p.
- HANCOCH, J. L. The morphology of boar spermatozoa. **J. R. Microsc. Soc.**, n. 76, p. 84– 97, 1957.
- HIBBERT, L. M., RODRIGUES, H. D., NOBLE, R. C., VIG, M. M., GOYAL, H. O. Effects of age and season on sperm abnormalities in Nubian goats. **Anat. Histol. Embryol** v. 15, p. 173, 1986.
- HOSSAIN, A. M., RIZK, B., BARIK, S., HUFF, C., THORNEYEROFT, I. H. Time course o hypo-osmotic swellings of human spermatozoa: evidence of ordered transition between swelling subtypes. **Human. Reprod.**, v. 13, p. 1578 – 1583, 1998.
- HUANG, S. Y., KUO, Y. H., LEE, Y. P., TSOU, H. L., LIN, E. C., JU, C. C., LEE, W. C. Association of heat shock protein 70 with semen quality in boars. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 63, p. 231 – 240, 2000.
- JEYENDRAN, R. S., Van der Ven H. H., PEREZ-PELAEZ, M., CRABO, B. G., ZANEVELD, L. J. Development of an assay to assess the functional integrity of the human sperm membrane and its relationship to other semen characteristics. **J. Reprod. Fertil**, v. 70, p. 219 – 228, 1984.
- JEYENDRAN, R. S., Var der Ven, H. H., ZANEVELD, L. J.D. The hypoosmotic swelling test: an update. **Arch. Of Androl**, v. 29, p. 105 – 116, 1992.
- KARABINUS, D. S., VOGLER, C. J., SAACKE, R. G., EVENSON, D. P. Chromatin structural changes in sperm after scrotal insulation of Holstein bulls. **J. Androl.**, v. 18, n. 5, p. 549– 555, 1997.
- KARAGIANNIDIS, A.; VARSAKELI, S.; KARATZAS, G. Characteristics and seasonal variations in the semen of Alpine, Saanen and Damascus goat bucks born and raised in Greece. **Theriogenology**, v. 53, p. 1285 – 1293, 2000.
- KARATZAS, G., KARAGIANNIDIS, A., VARSAKELI, S., BRIKAS, P.

- Fertility of fresh and frozen-thawed goat semen during the nonbreeding season. **Theriogenology**, v. 48, p. 1049–1059, 1997.
- KOUTSOURIS, CH., ELEFThERIOU, E. Seasonal variation of the semen production in Saanen and indigenous breed bucks. **Proc. 5^o Hellenic Vet. Congr.**, p. 19 – 20, 1990.
- KUMI-DIAKA, J., NAGARATNAM, V., RWUAAN, J. S. Seasonal and age – related changes in semen quality and testicular morphology of bulls in a tropical environment. **Vet. Rec** v. 108, p. 13 – 15, 1981.
- KUMI-DIAKA, J. Subjecting canine semen to the hypo-osmotic test. **Theriogenology**. v. 39, p. 1279 – 1289, 1993.
- LEBOEUF, B., RESTALL, B., SALAMON, S., Production and storage of goat semen for artificial insemination **Anim. Reprod. Sci.**, v. 62, p. 113 – 141, 2000.
- MACHADO, R. Inseminação artificial com sêmen congelado em caprinos. IX Congresso Brasileiro de Reprodução Animal **Anais...**1991, p. 256 – 276.
- MACHADO, R., SIMPLÍCIO, A. A., PINHEIRO, A. Testes objetivos do comportamento sexual do bode. **Rev. Bras. Reprod. Anim.** v. 18, n. 1-2, p. 19 – 30, 1994.
- MAIA, M., VIEIRA, R. J. Comportamento sexual do caprino. II. Aspectos quanti-qualitativos do sêmen no período pós-puberal. **Rev. Bras. Reprod. Ani**, v.16, n. 1 – 2, p. 23 – 32, 1992.
- MAZUR, P. Freezing of living cells: mechanisms and implications. **American Journal of Physiology**, v. 247, p. 125 – 142, 1984.
- McLAUGHLIN, E. A., FORD, W. C. L., HULL, M. G. R. Motility characteristics and membrane integrity of cryopreserved human spermatozoa. **J. Reprod. Fert.**, v; 95, p. 527 – 534, 1992.
- MCNITT, J. L., FIRST, N. L. Effects of 72-h heat stress on semen quality in boars. **Int. J. Biometer**. v. 14, p. 373 – 380, 1970.
- MEMON, A. M., BRETZLAFF, K. N., OTT. R. S. Effect of washing on motility and acrosome morphology of frozen-thawed goat spermatozoa. **Am. J. Vet. Res.**, v. 46, n. 2, p. 473 – 475, 1985.
- MÉNDEZ, J.V., HERRERA, G.G., GARCÍA, M.E.G., GONZÁLEZ, A.T. Motilidad y daño acrosomal del semen caprino congelado en pajillas de 0,25 mL y 0,5 mL y descongelado a dos diferentes ritmos de temperatura **Vet. Méx.**, v.25, n.2, p.127-131, 1994.

- MIYAMOTO, A., UMEZU, M., HAMANO, K., MASAKI, J. Seasonal changes in inhibin activity in seminal plasma and serum concentrations of FSH, LH and testosterone in the male goat (*Capra hircus*). **Theriogenology**. v. 28, n. 1, p. 67 – 76, 1987.
- MOREIRA, J.N., GUIMARÃES FILHO, C., ARAÚJO, G. G. L., SILVA, A. K. N. Desempenho reprodutivo de caprinos criados na caatinga e suplementados no período seco no sertão de Pernambuco. XXXVII Reunião Anual da SBZ. **Anais...**, 2000. p. 1 – 3.
- MUDUULI, D. S., SANFORD, L. M., PALMER, W. M., HOWLAND, B. E. Secretory patterns and circadian and seasonal changes in luteinizing hormone, follicle stimulating hormone, prolactin and testosterone in the male pygmy goat. **J. Anim. Sci.** v. 49, n. 2, p. 543 – 553, 1979.
- MÜLLER, P. B. **Bioclimatologia aplicada aos animais domésticos**. 3. ed. Porto Alegre, Sulina, 1989, 262 p.
- NEILD, D., CHAVES, G., FLORES, M., MORA, N., BECONI, M., AGUERO, A. Hypoosmotic test in equine spermatozoa. **Theriogenology**., v. 51, p. 721 – 727, 1999.
- NUNES, J. F. **Fisiologia sexual do macho caprino**. Sobral: EMBRAPA – CNPC, 1982. 41 p. (EMBRAPA – CNPC. Circular Técnica, 5).
- OLAR, T. T., BOWEN, R. A., PICKETT, B. W. Influence of extender, cryopreservative and seminal processing procedures on post-thaw motility of canine spermatozoa frozen in straws. **Theriogenology**, v. 31, n. 2, p. 451 – 561, 1989.
- PELLICER, M. T. **Purificacion y caracterizacion del componente de la secrecion bulbouretral de macho cabrio implicado en el deterioro de la calida de los espermatozoides diluidos en leche**. In: Tesina de Licenciatura. Universidad de Murcia, 1995, 200 p.
- PRICE, E. O., SMITH, V. M., KATZ, L. S. Sexual stimulation of male dairy goats. **Appl. Ani. Behav. Sci.**, v. 13, p. 83 – 92, 1985.
- PRICE, E.O., BORGWARDT, R., ORIHUELA, A., DALLY, M. R. Sexual stimulation in male sheep and goats. **Appl. Anim. Behav. Sci.** v. 59, p. 317 – 322, 1998.
- RITAR, A. J. Seasonal changes in LH, androgens and testes in the male Angora goat. **Theriogenology**. v. 36, p. 959 – 970, 1991.
- ROBERTS, S. J. **Veterinary obstetrics and genital diseases (Theriogenology)**. 3. Ed. Michigan, Edwards Brothers, 1986, 981p.

- ROBINSON, E. Termorregulação. In: CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de fisiologia veterinária**, 1. ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1993. cap.51, p. 427 - 435.
- ROCA, J., MARTINEZ, E., SANCHEZ-VALVERDE, M. A., RUIZ, S., VAZQUEZ, J. M. Seasonal variations of semen quality in male goats: study of sperm abnormalities. **Theriogenology**, v. 38, p. 115 – 125, 1992.
- ROCA, J., MARTINEZ, E., VAZQUEZ, J. M., RUIZ, S., COY, P. Influence of season on testicle size and libido in male goats from the Mediterranean area. **Anim. Prod.**, v. 52, 317– 321, 1991.
- ROTA, A., PENZO, N., VINCENTI, L., MONTOVANI, R. Hypoosmotic swelling (HOS) as a screening assay for testing in vitro fertility of bovine spermatozoa. **Theriogenology**, v. 53, p. 1415 – 1420, 2000.
- SAEG - Sistema de Análise Estatísticas e Genéticas.** Universidade Federal de Viçosa – UFV, 1995. –. Viçosa, MG. (Apostila).
- SAS user's guide statistics, version 6.12 edition. Cary, NC: SAS Institute Inc., 1998, 956p.
- SEKONI, V.O., GUSTAFSSON, B.K. Seasonal variation in the incidence of sperm morphological abnormalities in dairy bulls regularly used for Artificial Insemination. **Br. Vet. J.**, v.143: p. 312 – 317, 1987.
- SIGNORET, J. P., COHEN-TANNOUDJI, J., GONZALES, R., Effect of socio-sexual interactions on endocrine secretions in the domestic sheep. In: Hormones and Behaviour in Vertebrates: 2. Behavioural in males and females social interactions and reproductive endocrinology. Balthazart, j. (Ed), Comp. Physiol. Base karger, v. 9, p. 188 – 200, 1990.
- SIMPLÍCIO, A.A., MACHADO, R. Tecnologia de sêmen e inseminação artificial na espécie caprina. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 8, 1989. Belo Horizonte. **Palestras.** Belo Horizonte: CBRA, 1989. p.171-177.
- SINHA, N. K., WANI, G. M., SAHNI, L. K. Effect of seasons and age on seminal attributes of Jamunapari bucks. **Indian Vet. J.** v. 58, p. 963 – 965, 1981.
- SODERQUIST, L., MADRID-BURY. N., RODRIGUEZ-MARTINEZ, H. Assessment of ram sperm membrane integrity following different thawing procedures. **Theriogenology**. v. 48, p. 1115 – 1125, 1997.
- SOUSA, J.P.F.; BARBAS, J.P.; FERREIRA, G.M.B.C. E HORTA, A.E.M.

- Varição anual das características seminais em bodes da raça Serrana. **X Congresso de Zootecnia “Progressos Zootécnicos nos Países de Língua Portuguesa”**, 2-4 Nov. 2000, Vale de Santarém, p. 87 (Artigo Aguardando Publicação)
- STABENFELDT, G. H., EDQVIST, L. E. Processos reprodutivos do macho, In: DUKES, M. J. S. **Fisiologia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro, Editora Guanabara, 1988. P. 719 – 730.
- STAMATIADIS, K. Seasonal variation in semen production of Alpine goats. **Proc. 5^o Hellenic Vet. Congr.**, p. 22 – 23, 1990.
- TASSERON, F., AMIR, D., SCHINDLER, H. Acrosome damage of ram spermatozoa during dilution, cooling and freezing. **J. Reprod. Fert.** v. 51, p. 461 – 462, 1977.
- TRALDI, A. S. **Aspectos físicos e morfológicos do sêmen de caprinos da raça Moxotó, da puberdade à maturidade sexual** Belo Horizonte: Escola de Veterinária da UFMG, 1983. 92p. (Dissertação, Mestrado).
- TULI, R. K., HOLTZ, W. Effect of glicerolization procedure and removal of seminal of seminal plasma on post-thaw survival and GOT-release from Bôer goat spermatozoa. **Theriogenology**, v. 42, p. 547 – 555, 1994.
- TULI, R. K., HOLTZ, W. Effect of season on the freezability of Bôer goat semen in the northern temperate zone. **Theriogenology**, v. 43, p. 1359 – 1363, 1995.
- VILAR FILHO, A. C., BARNABE, V. H., BIRGEL, E. H., BARNABE, R. C., VISINTIN, J. A. Características testiculares e seminais de caprinos criados na região semi-árida do estado da Paraíba. II. Características seminais. **Rev. Bras. Reprod. Anim.** v. 17, n. 1 – 2, p. 23 - 32, 1993a.
- VILAR FILHO, A. C., BIRGEL, E. H., BARNABE, V. H., VISINTIN, J. A., BARNABE, R. C. Características testiculares e seminais de caprinos criados na região semi-árida do estado da Paraíba. I. Características testiculares. **Rev. Bras. Reprod. Anim.** v. 17, n. 1 – 2, p. 17 – 22, 1993b.
- VOGLER, C. J., BAME, J. H., DEJARNETTE, J. M., MCGILLIARD, M. L., SAACKE, R. G. Effects of elevated testicular temperature on morphology characteristics of ejaculated spermatozoa in the bovine. **Theriogenology**, v. 40, p. 1207 – 1219, 1993.
- WALD, V. B., JOBIM, M. I. M., OBERST, E. R. Produção espermiática em caprinos: influência etária e sazonal. **A Hora Veterinária**, n. 42, p. 45 – 48, 1988.

WETTEMANN, R. P., DESJARDINS, C. Testicular function in boars exposed to elevated ambient temperature. **Biol. Reprod.** v. 20, p. 235 – 241, 1979.

ZYGOGIANNIS, D., KATSAOUNIS, N., KARATZAS, G., The effect of the method of breeding on the reproductive performance indigenous goats (*Capra prisca*) mated at the beginning of the breeding season. **Anim. Prod.**, v. 49, p. 291 – 297, 1989.

APÊNDICE

Análise de Variância

Idade (mês)

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F
Signif.				
RACA	1	1392.045	1392.045	118.986
0.00000				
ID	1	47123.11	47123.11	4027.863
0.00000				
Resíduo	85	994.4390	11.69928	
Coeficiente de Variação = 9.519				

Tempo de Reação

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F
Signif.				
RACA	1	5530.69257	5530.69257	2.44
0.1224				
ID	1	34945.6086	34945.6086	15.43
0.0002				
PERIOD	1	1487.83190	1487.83190	0.66
0.4202				
RACA*ID	1	8066.95112	8066.95112	3.56
0.0630				
RACA*PERIOD	1	1968.96506	1968.96506	0.87
0.3541				
ID*PERIOD	1	1352.27619	1352.27619	0.60
0.4421				
RACA*ID*PERIOD	1	732.475593	732.475593	0.32
0.5713				
Resíduo	74	167577.208	2264.55686	
Coeficiente de Variação = 96.80386				

Número de Saltos

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F
Signif.				
RACA	1	0.923666	0.923666	2.18
0.1437				
ID	1	0.0453462	0.0453462	0.11
0.7443				
PERIOD	1	0.154759	0.154759	0.37
0.5472				
RACA ID	1	0.108896	0.108896	0.26
0.6135				
RACA PERIOD	1	0.053295	0.053295	0.13
0.7237				
ID PERIOD	1	0.389305	0.389305	0.92
0.3406				
RACA ID PERIOD	1	1.029661	1.029661	2.43
0.1230				
Resíduo	77	32.59864	0.423358	

Coeficiente de Variação = 52.6725

Perímetro Escrotal

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F
Signif				
RACA	1	10.82134	10.82134	11.02
0.0014				
ID	1	650.4505	650.4505	662.61
0.0001				
PERIOD	1	18.91428	18.91428	19.27
0.0001				
RACA ID	1	13.01237	13.01237	13.26
0.0005				
RACA PERIOD	1	0.313725	0.313725	0.32
0.5735				
ID PERIOD	1	1.001628	1.001628	1.02
0.3156				
RACA ID PERIOD	1	0.165484	0.165484	0.17
0.6825				
Resíduo	77	75.586728	0.981645	
Coeficiente de Variação =	3.202			

Volume

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F
Signif				
RACA	1	0.07634713	0.07634713	0.3968
ID	1	4.30739192	4.30739192	0.0001
PERIOD	1	0.30803141	0.30803141	0.0911
RACA*ID	1	1.31067818	1.31067818	0.0007
RACA*PERIOD	1	0.15500420	0.15500420	0.2285
ID*PERIOD	1	0.23093753	0.23093753	0.1425
RACA*ID*PERIOD	1	0.04839912	0.04839912	0.4995
Resíduo	74	7.777692	0.105103	
Coeficiente de Variação =	45.44305			

Turbilhonamento

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F
Signif				
RACA	1	9.83403057	9.83403057	13.92
ID	1	34.04255264	34.04255264	48.19
PERIOD	1	0.57303196	0.57303196	0.81
RACA*ID	1	10.42633450	10.42633450	14.76
RACA*PERIOD	1	0.01866064	0.01866064	0.03
ID*PERIOD	1	0.17287061	0.17287061	0.24
RACA*ID*PERIOD	1	0.00189628	0.00189628	0.00
Resíduo	74	52.274839	0.706416	
Coeficiente de Variação =	21.94900			

Motilidade

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	
Signif					
RACA	1	853.02359375	853.02359375	10.79	0.0016
ID	1	1042.89873273	1042.89873273	13.19	0.0005
PERIOD	1	52.19278670	52.19278670	0.66	0.4192
RACA*ID	1	336.31919948	336.31919948	4.25	0.0427
RACA*PERIOD	1	189.60443346	189.60443346	2.40	0.1258
ID*PERIOD	1	48.68505321	48.68505321	0.62	0.4352
RACA*ID*PERIOD	1	28.85873347	28.85873347	0.36	0.5476
Resíduo	73	5771.944444	79.067732		
Coeficiente de Variação = 10.798					

Vigor

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	
Signif					
RACA	1	0.61872343	0.61872343	3.26	0.0752
ID	1	0.20230673	0.20230673	1.07	0.3054
PERIOD	1	1.55333337	1.55333337	8.18	0.0055
RACA*ID	1	0.39193390	0.39193390	2.06	0.1551
RACA*PERIOD	1	0.57110667	0.57110667	3.01	0.0871
ID*PERIOD	1	0.17548680	0.17548680	0.92	0.3395
RACA*ID*PERIOD	1	0.01023992	0.01023992	0.05	0.8170
Resíduo	73	13.861149	0.189878		
Coeficiente de Variação = 9.132					

Concentração Espermática Total

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	
Signif					
RACA	1	1433.494	1433.494	0.077	*****
ID	1	246310.3	246310.3	13.226	0.00054
PERIOD	1	12850.35	12850.35	0.690	*****
RACA ID	1	41580.03	41580.03	2.233	0.13989
RACA PERIOD	1	404.6384	404.6384	0.022	*****
ID PERIOD	1	978.0688	978.0688	0.053	*****
Resíduo	66	1229166	18623.73		
Coeficiente de Variação = 64.591					

Defeitos Maiores

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	
Signif					
RACA	1	502.42746352	502.42746352	4.87	0.0312
ID	1	977.50601978	977.50601978	9.47	0.0031
PERIOD	1	31.69568716	31.69568716	0.31	0.5815
RACA*ID	1	269.13376217	269.13376217	2.61	0.1116
RACA*PERIOD	1	44.03114363	44.03114363	0.43	0.5162

ID*PERIOD	1	200.73555505	200.73555505	1.94	0.1683
RACA*ID*PERIOD	1	0.47275722	0.47275722	0.00	0.9463
Resíduo	61	6297.5892	103.239168		

Coeficiente de Variação = 105.6648

Defeitos Menores

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	
Signif					
RACA	1	140.85745564	140.85745564	1.80	0.1847
ID	1	380.62603314	380.62603314	4.86	0.0312
PERIOD	1	102.90628791	102.90628791	1.31	0.2560
RACA*ID	1	17.97210532	17.97210532	0.23	0.6335
RACA*PERIOD	1	104.91478048	104.91478048	1.34	0.2515
ID*PERIOD	1	266.81546461	266.81546461	3.41	0.0697
RACA*ID*PERIOD	1	0.29694609	0.29694609	0.00	0.9511
Resíduo	61	4774.619543	78.272451		

Coeficiente de Variação = 94.49766

Defeitos Totais

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	
Signif					
RACA	1	323.33738163	323.33738163	1.36	0.2487
ID	1	2728.28666212	2728.28666212	11.44	0.0013
PERIOD	1	283.73794780	283.73794780	1.19	0.2796
RACA*ID	1	1121.02740286	1121.02740286	4.70	0.0340
RACA*PERIOD	1	257.80730378	257.80730378	1.08	.3025
ID*PERIOD	1	1367.15290416	1367.15290416	5.73	0.0197
RACA*ID*PERIOD	1	51.69265410	51.69265410	0.22	0.6431
Resíduo	67	14541.6924	238.388400		

Coeficiente de Variação = 77.8194

Hipomótico (Cauda dobrada)

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	
Signif					
RACA	1	21.45383885	21.45383885	0.11	0.7465
ID	1	22.22243789	22.22243789	0.11	0.7421
PERIOD	1	1381.11118875	1381.11118875	6.79	0.0114
RACA*ID	1	86.14216701	86.14216701	0.42	0.5176
RACA*PERIOD	1	0.31801242	0.31801242	0.00	0.9686
ID*PERIOD	1	415.48999310	415.48999310	2.04	0.1579
RACA*ID*PERIOD	1	33.99089890	33.99089890	0.17	0.6841
Resíduo	64	13024.8347	203.513042		

Coeficiente de Variação = 36.52045

Hipomótico (Cauda fortemente dobrada)

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F
Signif				
RACA	1	5.54868875	5.54868875	0.03
ID	1	656.85883368	656.85883368	3.75
PERIOD	1	1078.65013803	1078.65013803	6.15
RACA*ID	1	40.77187716	40.77187716	0.23
RACA*PERIOD	1	179.22156660	179.22156660	1.02
ID*PERIOD	1	67.92301587	67.92301587	0.39
RACA*ID*PERIOD	1	271.88574879	271.88574879	1.55
Resíduo	64	11221.1388	175.33029	0.2176
Coeficiente de Variação = 99.2059				

Hiposmótico Total

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F
Signif				
RACA	1	245.42837473	245.42837473	1.28
ID	1	806.50931342	806.50931342	4.21
PERIOD	1	0.13079369	0.13079369	0.00
RACA*ID	1	1143.20039778	1143.20039778	5.97
RACA*PERIOD	1	475.56486898	475.56486898	2.48
ID*PERIOD	1	1853.84791496	1853.84791496	9.68
RACA*ID*PERIOD	1	297.33465703	297.33465703	1.55
Resíduo	55	10533.83581349	191.52428752	0.2181
Coeficiente de Variação = 38.25676				

Motilidade - Sêmen Diluido

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F
Signif				
RACA	1	199.7355	199.7355	1.081
0.30277				
ID	1	1539.627	1539.627	8.331
0.00544				
RACA ID	1	247.5493	247.5493	1.339
0.25179				
Resíduo	59	10903.64	184.8074	
Coeficiente de Variação = 17.267				

Vigor - Sêmen Diluido

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F
Signif				
RACA	1	0.5998040	0.5998040	1.769
0.18864				
ID	1	2.212973	2.212973	6.526
0.01323				
RACA ID	1	0.6276693E-01	0.6276693E-01	0.185

Resíduo	59	20.00578	0.3390810	
Coeficiente de Variação = 12.917				

Motilidade - Sêmen Resfriado - em função da Raça e Idade

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F
Signif				

RACA		1	506.4535	506.4535	2.273
0.13681					
ID		1	3666.324	3666.324	16.454
0.00015					
RACA	ID	1	1033.304	1033.304	4.637
0.03525					
Resíduo		61	13591.92	222.8184	
Coeficiente de Variação = 20.956					

Vigor - Sêmen Resfriado - em função da Raça e Idade

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	
Signif					
RACA	1	1.358760	1.358760	2.798	
0.09949					
ID	1	3.951709	3.951709	8.138	
0.00591					
RACA	ID	1	0.3699229	0.3699229	0.762

Resíduo		61	29.61930	0.4855622	
Coeficiente de Variação = 16.561					

Motilidade – TTR 0,0 h

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	
Signif					
RACA	1	487.2659	487.2659	2.761	
0.10199					
ID	1	1815.441	1815.441	10.286	
0.00218					
RACA	ID	1	7.176439	7.176439	0.041

Resíduo		58	10236.38	176.4892	
Coeficiente de Variação = 37.679					

Vigor – TTR 0,0 h

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	
Signif					
RACA	1	0.8010129	0.8010129	2.231	
0.14072					
ID	1	7.816197	7.816197	21.766	
0.00002					
RACA	ID	1	1.256544	1.256544	3.499
0.06645					
Resíduo		58	20.82805	0.3591044	
Coeficiente de Variação = 19.004					

Motilidade – TTR 0,05 h

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif	
RACA	1	394.3708	394.3708	2.302	0.13467	
ID	1	1556.830	1556.830	9.086	0.00381	
RACA	ID	1	41.08173	41.08173	0.240	*****
Resíduo		58	9937.936	171.3437		
Coeficiente de Variação = 39.569						

Vigor – TTR 0,05 h

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif
RACA	1	0.3979278	0.3979278	1.139	0.29030
ID	1	4.408231	4.408231	12.617	0.00076
RACA ID	1	0.3518323	0.3518323	1.007	0.31979
Resíduo	58	20.26442	0.3493866		

Coeficiente de Variação = 20.360

Motilidade – TTR 1,0 h

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif
RACA	1	916.4903	916.4903	5.893	0.01832
ID	1	1076.360	1076.360	6.921	0.01089
RACA ID	1	34.58138	34.58138	0.222	*****
Resíduo	58	9019.940	155.5162		

Coeficiente de Variação = 41.546

Vigor – TTR 1,0 h

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif
RACA	1	1.065734	1.065734	2.371	0.12904
ID	1	1.284009	1.284009	2.857	0.09636
RACA ID	1	0.1126424	0.1126424	0.251	*****
Resíduo	58	26.06957	0.4494753		

Coeficiente de Variação = 25.501

Motilidade – TTR 2,0 h

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif
RACA	1	685.6084	685.6084	4.574	0.03675
ID	1	647.9502	647.9502	4.323	0.04211
RACA ID	1	6.495696	6.495696	0.043	*****
Resíduo	57	8542.961	149.8765		

Coeficiente de Variação = 47.926

Vigor – TTR 2,0 h

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif
RACA	1	2.408741	2.408741	4.093	0.04778
ID	1	0.6769231	0.6769231	1.150	0.28805
RACA ID	1	0.4041958	0.4041958	0.687	*****
Resíduo	57	33.54808	0.5885628		

Coeficiente de Variação = 33.190

Acrossoma Intacto – TTR 0, 0h

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif
RACA	1	2.366274	2.366274	0.025	*****
ID	1	90.00076	90.00076	0.952	*****
RACA ID	1	36.69382	36.69382	0.388	*****
Resíduo	58	5482.162	94.52003		

Coeficiente de Variação = 17.620

Acrossoma Anormal – TTR 0,0 h

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif
RACA	1	2.366274	2.366274	0.025	*****
ID	1	90.00076	90.00076	0.952	*****
RACA ID	1	36.69382	36.69382	0.388	*****
Resíduo	58	5482.162	94.52003		

Coeficiente de Variação = 21.690

Acrossoma Intacto – TTR 2,0 h

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif
RACA	1	1.365822	1.365822	0.016	*****
ID	1	63.15559	63.15559	0.730	*****
RACA ID	1	13.63855	13.63855	0.158	*****
Resíduo	57	4934.387	86.56819		

Coeficiente de Variação = 20.248

Acrossoma Intacto – TTR 2,0 h

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Signif
RACA	1	1.038549	1.038549	0.012	*****
ID	1	65.55559	65.55559	0.757	*****
RACA ID	1	14.76582	14.76582	0.170	*****
Resíduo	57	4939.387	86.65591		

Coeficiente de Variação = 17.218

Hiposmótico Total em função do Período – Raça Saanen Jovens

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F
Signif				
Período	1	889.1847	889.1847	2.428
0.12842				
Resíduo	34	12449.39	366.1586	

Coeficiente de Variação = 40.774

Hiposmótico Total em função do Período – Raça Saanen Adultos

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F
Signif				
Período	1	2578.531	2578.531	11.915
0.00168				
Resíduo	30	6492.336	216.4112	

Coeficiente de Variação = 33.517

Hiposmótico Total em função do Período – Raça Alpina Jovens

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F
Signif				
Período	1	1102.045	1102.045	5.633
0.02379				
Resíduo	32	6259.984	195.6245	

Coefficiente de Variação = 33.001

Hiposmótico Total em função do Período – Raça Alpina Adultos

Fontes de Variação	G.L.	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F
Signif				
Período	1	2637.050	2637.050	11.185
0.00207				
Resíduo	33	7780.622	235.7764	
Coefficiente de Variação =	31.164			