

LAURA ENES DE CARVALHO

Características físicas e fecundidade do sêmen de jumentos coletado de forma fracionada e preservado resfriado a 5°C

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária.

Área de Concentração: Reprodução Animal

Orientador: Prof. Dr. José Monteiro da Silva Filho

**Belo Horizonte
Escola de Veterinária - UFMG
2011**

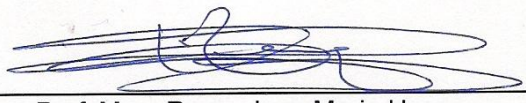
Dissertação defendida e aprovada em 23 de setembro de 2011, pela Comissão Examinadora constituída por:



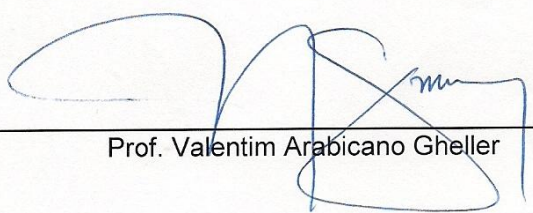
Prof. José Monteiro da Silva Filho
Presidente



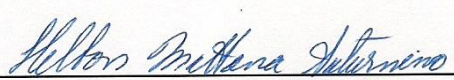
Profª. Fernanda da Cruz Landim Alvarenga



Prof. Marc Roger Jean Marie Henry



Prof. Valentim Arabicano Gheller



Prof. Helton Mattana Saturnino

*“Tão dócil, de olhar profundo, sentimento puro, amo tanto, se ele soubesse a força que tem... não seria tão fácil maltratá-lo, aprisioná-lo...
...há aqueles que o estimam, que cuidam, sorriem pra ele, até lhe abraçam...
ele é sensível e ao mesmo tempo forte, seu andar desenha as nuvens, faz do vento a carruagem, olhar profundo, certo, corajoso, perfeito, e assim mesmo há quem o abandone.”*

(Autor desconhecido)

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, pelas oportunidades que me proporcionaram,
pelos valores transmitidos. Aos animais, razão da minha
escolha.
Com todo amor, dedico.

*“a vida é breve, a arte longa, a oportunidade fugaz, a
experiência perigosa, a crítica difícil”*

Hipócrates

AGRADECIMENTOS

A Deus pelas oportunidades a mim concedidas;

Ao meu orientador, professor José Monteiro da Silva Filho, por despertar em mim o interesse pela pesquisa, por sua dedicação, seriedade e competência que o fazem um exemplo de profissional;

À professora Maristela Palhares, pelo apoio durante o período pré-experimental e pelo desgaste despendido durante a realização das análises estatísticas. Também ao professor Henrique Nunes, pela pronta disponibilidade em nos receber em Jaboticabal para realização das análises estatísticas;

Ao Sr. Tarcísio Resende, proprietário da fazenda Santa Edwiges, por tornar possível a realização deste trabalho ao disponibilizar seus animais e a infra-estrutura de sua fazenda. Pela liberdade conferida para a realização dos experimentos a despeito dos resultados, algumas vezes, inesperados. Agradeço também à toda sua família, Sra. Carmem, Tarcisinho e Mariana, pela receptividade e apoio, fazendo-nos sentir “em casa” durante o período de estadia em Lagoa Dourada;

A todos os funcionários da Fazenda Santa Edwiges, em especial ao Alexandre, Wisner, Gilmar, Ricardo, Zezé e Dirceu, pela ajuda indispensável durante a realização dos experimentos, não poupando esforços para atender nossas demandas, contribuindo para que o trabalho ocorresse da melhor maneira possível;

Ao Sr. Ruy Lage, por disponibilizar um de seus animais para a realização do pré-experimento;

Às companheiras de orientação, especialmente Amanda e Alice. Os resultados aqui apresentados são resultados de um trabalho em equipe. À Carol, pela ajuda e apoio, em todos os momentos. A presença de vocês tornou a caminhada mais alegre. À Amandinha e à Raíssa pelas sugestões e troca de experiências, pelo auxílio na fase final de redação deste trabalho. Também ao Diego e à Rute, mesmo curta, a convivência foi engrandecedora;

À Maria, pela ajuda nos momentos de “sufoco”;

Ao Sebastião Alves (Tião), por todo o auxílio no período pré-experimental, pela disponibilidade e bom-humor, sempre presentes. Ao Dário Dias, técnico do Setor de Reprodução, por todo o apoio a fim de facilitar nossos trabalhos e ao Fábio pelas informações “valiosas”;

Às secretárias do Departamento de Clínica e Cirurgia, Lili e Rosângela, e do Colegiado de Pós-Graduação, Débora e Luzete, pela ajuda;

Aos coordenadores do Colegiado de Pós-Graduação em Ciência Animal, Prof. Romário Cerqueira Leite e Prof. Roberto Guedes pela compreensão necessária para a conclusão desta dissertação;

Aos professores do setor de Reprodução Animal, do departamento de Clínica e Cirurgia Veterinárias, Alan Maia Borges, Antônio de Pinho Marques Júnior, Marc Henry, Monique Lagares e Vicente Ribeiro do Vale Filho pelos ensinamentos transmitidos durante o curso;

Aos membros da banca examinadora pelas valiosas sugestões que enriqueceram este trabalho;

À Universidade Federal de Minas Gerais e à Escola de Veterinária pela oportunidade de realização do curso;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais, pela concessão da bolsa de estudos;

Aos meus pais, irmãos e toda a minha família, pelo apoio e carinho sempre presentes, por entenderem minha ausência, por serem meu porto seguro;

Ao Lucas, por me incentivar a ir mais longe, pelo companheirismo e cumplicidade, pelo amor;

Aos animais, pela colaboração silenciosa e desprendida, pelos olhares não traduzíveis em palavras;

À todos que direta ou indiretamente, colaboraram para a realização deste trabalho e que não foram mencionados, minhas desculpas e sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO	
	LISTA DE GRÁFICOS 12
	LISTA DE FIGURAS 12
	LISTA DE TABELAS 12
	LISTA DE ANÁLISES ESTATÍSTICAS 14
	RESUMO 54
	ABSTRACT 55
1.	INTRODUÇÃO 56
2.	REVISÃO DE LITERATURA 58
2.1.	Fatores a serem considerados no processo de resfriamento, transporte e utilização do sêmen diluído de asininos 58
2.1.1.	Fatores inerentes ao reprodutor e ao sêmen 59
2.1.1.1.	Individualidade do reprodutor 59
2.1.1.2.	Características do sêmen de asininos 61
2.1.1.3.	Composição do plasma seminal 64
2.1.1.4.	Composição bioquímica das membranas da célula espermática e alterações causadas durante o resfriamento 69
2.1.1.5.	Diluidores do sêmen de equídeos..... 72
2.1.1.5.1.	Macromoléculas utilizadas no diluidor 74
2.1.1.5.2.	Utilização de crioprotetores penetrantes 80
2.1.1.5.3.	Outros aditivos 83
2.1.1.6.	Efeito da coleta fracionada, da centrifugação com retirada do plasma seminal e da taxa de diluição sobre as características de motilidade espermática e taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen equídeo resfriado e/ou transportado..... 86
2.1.1.7.	Influência do volume e concentração espermática por dose inseminante sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen resfriado e/ou transportado de equídeos.... 93
2.1.1.8.	Influência do tipo de envasamento do sêmen e do percentual de gases sobre as características físicas e fertilidade do sêmen resfriado e/ou transportado de equídeos.... 96
2.1.1.9.	Influência da taxa de resfriamento sobre as características físicas e fertilidade do sêmen resfriado e/ou transportado de equídeos 98
2.1.1.10.	Influência da temperatura final de armazenamento sobre as características físicas e fertilidade do sêmen resfriado e/ou transportado de equídeos 100
2.1.1.11.	Efeito do tempo de estocagem do sêmen sobre as características físicas e fertilidade do sêmen resfriado e/ou transportado de equídeos 103
2.1.1.12.	Contêineres utilizados para o resfriamento e/ou transporte do sêmen de equídeos 105
2.1.2.	Fatores inerentes às fêmeas equinas 107
2.1.2.1.	Efeito da idade 108
2.1.2.2.	Efeito da categoria reprodutiva 111
2.1.2.3.	Efeito do momento de deposição do sêmen no sistema genital da égua em relação à ovulação 113
2.1.2.4.	Efeito do número de inseminações por ciclo 118
2.1.2.5.	Fertilidade de éguas ou jumentas inseminadas com sêmen fresco, resfriado ou congelado de asininos..... 120
3.	MATERIAIS E MÉTODOS 126
3.1.	Localização, condições climáticas e período experimental 126
3.2.	Delineamento experimental 127
3.2.1.	Experimento I. Caracterização dos jatos que compõem a fração espermática rica do ejaculado de jumentos da raça Pêga..... 127
3.2.2.	Experimento II. Efeito de diluidores e do resfriamento sobre as características físicas do sêmen de jumentos e sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas 127
3.2.2.1.	Experimento IIa. Efeito de diluidores e do resfriamento sobre as características físicas do sêmen, avaliadas à diferentes períodos de estocagem, em contêiner proposto por Palhares (1997) 127
3.2.2.2.	Experimento IIb. Taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen asinino diluído

	nos diluidores de Leite em Pó Desnatado – Glicose (LPDG) ou Lactose – Gema de Ovo modificado (LGO) e resfriado em contêiner proposto por Palhares (1997).....	128
3.2.3.	Experimento III. Efeito da concentração espermática por dose inseminante e do resfriamento sobre as características físicas do sêmen de jumentos e sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas	129
3.2.3.1.	Experimento IIIa. Efeito da concentração espermática por dose inseminante sobre as características físicas do sêmen de jumentos, avaliadas a diferentes períodos de estocagem em contêiner proposto por Palhares (1997).....	129
3.2.3.2.	Experimento IIIb. Efeito da concentração espermática por dose inseminante sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen asinino diluído, resfriado e estocado, em contêiner proposto por Palhares (1997)	129
3.2.4.	Manejo reprodutivo e nutricional das éguas	130
3.2.5.	Manejo reprodutivo e nutricional dos reprodutores	131
3.2.6.	Diluidores utilizados	131
3.2.7.	Coleta, avaliação e resfriamento do sêmen	133
3.2.8.	Preparo das doses inseminantes e resfriamento do sêmen	134
3.2.9.	Avaliação do sêmen	136
3.2.10.	Inseminações artificiais	136
3.2.11.	Análises estatísticas	137
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	146
4.1.	Experimento I. Caracterização dos jatos que compõem a fração espermática rica do ejaculado de jumentos da raça Pêga	146
4.2.	Experimento II. Efeito de diluidores e do resfriamento sobre as características físicas do sêmen de jumentos e sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas	148
4.2.1.	Experimento IIa. Efeito de diluidores e do resfriamento sobre as características físicas do sêmen, avaliadas a diferentes períodos de estocagem, em contêiner proposto por Palhares (1997)	148
4.2.1.1.	Características físicas do sêmen fracionado <i>in natura</i> e a fresco diluído de jumentos ...	148
4.2.1.2.	Características físicas do sêmen diluído em diluidor LPDG ou LGO e resfriado a 5°C em contêiner proposto por Palhares (1997)	152
4.2.2.	Experimento IIb. Taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen asinino diluído nos diluidores de Leite em Pó Desnatado – Glicose (LPDG) ou Lactose – Gema de Ovo modificado (LGO) e resfriado em contêiner proposto por Palhares (1997).....	159
4.2.2.1.	Taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen asinino nos diluidores de Leite em Pó Desnatado Glicose (LPDG) ou Lactose-Gema de Ovo modificado (LGO), e resfriado a 5°C em contêiner proposto por Palhares (1997), independentemente do jumento utilizado	159
4.2.2.2.	Taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado de diferentes jumentos, independentemente do diluidor utilizado	165
4.3.	Experimento III. Efeito da concentração espermática por dose inseminante e do resfriamento sobre as características físicas do sêmen de jumentos e sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas	167
4.3.1.	Experimento IIIa. Efeito da concentração espermática por dose inseminante sobre as características físicas do sêmen de jumentos, avaliadas a diferentes períodos de estocagem em contêiner proposto por Palhares (1997)	167
4.3.1.1.	Características físicas do sêmen fracionado <i>in natura</i> e a fresco diluído de jumentos	167
4.3.1.2.	Efeito da concentração espermática por dose inseminante sobre as características físicas do sêmen de jumentos, avaliadas a diferentes períodos de estocagem em contêiner proposto por Palhares (1997).....	171
4.3.2.	Experimento IIIb. Efeito da concentração espermática por dose inseminante sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen asinino diluído, resfriado e estocado, em contêiner proposto por Palhares (1997).....	177
4.3.2.1.	Efeito da dose inseminante sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen asinino diluído, resfriado e estocado em contêiner proposto por Palhares (1997),	

	independentemente do jumento utilizado	177
4.3.2.2.	Efeito do jumento sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen asinino diluído, resfriado e estocado, em contêiner proposto por Palhares (1997), independentemente da dose inseminante utilizada	181
5.	CONCLUSÕES	183
5.1.	Experimento I	183
5.2.	Experimentos II e III	183
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	185
7.	ANEXOS	208

LISTA DE GRÁFICOS		
Grafico 1.	Pluviosidade média mensal, na Fazenda Santa Edwiges, ao longo dos anos de 2010 e 2011	126
LISTA DE FIGURAS		
Figura 1.	a) Coleta do sêmen utilizando-se jumenta imobilizada em tronco de contenção .	139
	b) coleta do sêmen em manequim	139
	c) vagina artificial aberta	139
	d) copo coletor	139
	e) recepção dos jatos no copo coletor	139
Figura 2.	Preparação do diluidor de Lactose – Gema de Ovo modificado	140
	a) ovos lavados e esterelizados com álcool	140
	b) separação da gema	140
	c) gema livre após remoção completa da clara	140
	d) ruptura da gema.....	140
	e) adição da gem à solução de lactose a 11%	140
Figura 3.	a) e b) recipientes estéreis para armazenamento do diluidor LPDG	141
	c) diluidores LPDG (branco) e LGO (amarelo) prontos para utilização.....	141
	d) contêiner proposto por Palhares (1997) e bloco refrigerador	141
	e) inserção do tubo de ensaio contendo a dose inseminante no contêiner	141
	f) homogeneização das amostras previamente às avaliações	141
Figura 4.	a) Garanhão introduzido no recinto onde encontravam-se as éguas.....	142
	b) garanhão no curral vizinho ao das éguas permitindo contato físico entre os animais; égua manifestando cio	142
	c e d) inseminação artificial com sêmen resfriado	142
	e) diagnóstico de gestação, por ultrassonografia, aos 13 dias pós-ovulação	142
Figura 5.	Ficha de controle reprodutivo individual das éguas	143
Figura 6.	a) Ficha de controle do comportamento sexual do jumento e avaliação física do sêmen a fresco, diluído e resfriado, utilizada no Experimento II	144
	b) Ficha de controle do comportamento sexual do jumento e avaliação física do sêmen a fresco, diluído e resfriado, utilizada no Experimento III.....	145
LISTA DE TABELAS		
Tabela 1.	Taxas de concepção advindas da utilização do sêmen asinino resfriado utilizando-se diferentes diluidores.....	74
Tabela 2.	Motilidade e integridade da membrana plasmática em função da concentração de complexo colesterol-ciclodextrina (CLC, Rozas, 2005).....	85
Tabela 3.	Fertilidade de éguas e/ou jumentas cobertas ou inseminadas com sêmen asinino fresco, diluído, resfriado ou congelado.....	121
Tabela 4.	Dados meteorológicos médios do período experimental	126
Tabela 5.	Distribuição dos ejaculados, por jumento, no Experimento I	127
Tabela 6.	Distribuição dos ciclos por égua, jumento e tratamento no Experimento II	128
Tabela 7.	Disribuição das fêmeas equinas por idade e tratamento, no Experimento II	128
Tabela 8.	Diribuição das éguas por tratamento e categoria reprodutiva no Experimento II	128
Tabela 9.	Distribuição dos ciclos por jumento e tratamento, no Experimento III	130
Tabela 10.	Distribuição das fêmeas equinas por ciclo e idade, no Experimento III.....	130
Tabela 11.	Distribuição das fêmeas equinas por ciclo e categoria reprodutiva, no Experimento III	130
Tabela 12.	Características seminais dos reprodutores utilizados nos Experimentos I, II e III	132
Tabela 13.	Composição dos diluidores utilizados nos Experimentos II e III	132
Tabela 14.	Intervalo médio real, em horas, entre a coleta e a avaliação do sêmen nos diferentes períodos	137
Tabela 15.	Características espermáticas dos jatos oriundos da fração rica do ejaculado de jumentos da raça Pêga, submetidos à coleta fracionada do sêmen	146
Tabela 16.	Concentração espermática por jato da fração rica do ejaculado,	

	independentemente do jumento	148
Tabela 17.	Características físicas do sêmen e número de doses inseminantes produzidas por jumentos da raça Pêga, utilizados no Experimento II	150
Tabela 18.	Número de amostras avaliadas, por jumento e tratamento, nos diferentes períodos de avaliação do Experimento II	152
Tabela 19.	Análise dos fatores capazes de influenciar a motilidade espermática do sêmen asinino fracionado, diluído nos diluidores de Leite em Pó Desnatado-Glicose ou Lactose-Gema de Ovo e resfriado, avaliado a diferentes períodos após a sua coleta	152
Tabela 20.	Efeito do jumento e do diluidor sobre a motilidade espermática, avaliada após a coleta (Fresco), após a pré-diluição (PD), previamente à inseminação artificial (Pré-IA) e à diferentes períodos de estocagem do sêmen à 5°C (24 e 48 horas), em contêiner proposto por Palhares (1997)	154
Tabela 21.	Efeito do jumento e do diluidor sobre o vigor espermático, avaliado após a coleta (Fresco), após a pré-diluição (PD), previamente à inseminação artificial (Pré-IA) e à diferentes períodos de estocagem do sêmen à 5°C (24 e 48 horas), em contêiner proposto por Palhares (1997)	154
Tabela 22.	Parâmetros de controle e de resultados de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, considerando-se o efeito do diluidor, independentemente do jumento utilizado	160
Tabela 23.	Parâmetros de controle e de resultados de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, considerando-se o efeito do jumento, independentemente do diluidor utilizado	166
Tabela 24.	Características físicas do sêmen e número de doses inseminantes produzidas por jumentos da raça Pêga utilizados no Experimento III	168
Tabela 25.	Efeito do jumento e da concentração espermática por dose inseminante sobre a motilidade espermática do sêmen fracionado de jumentos da Raça Pêga, avaliada após a coleta (Fresco), após a pré-diluição (PD), previamente à inseminação artificial (Pré-IA) e à diferentes períodos de estocagem do sêmen à 5°C (24 e 48 horas), em contêiner proposto por Palhares (1997)	173
Tabela 26.	Efeito do jumento e da concentração espermática por dose inseminante sobre o vigor espermático do sêmen fracionado de jumentos da Raça Pêga, avaliado após a coleta (Fresco), após a pré-diluição (PD), previamente à inseminação artificial (Pré-IA) e à diferentes períodos de estocagem do sêmen à 5°C (24 e 48 horas), em contêiner proposto por Palhares (1997)	173
Tabela 27.	Parâmetros de controle e de resultados de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, considerando-se o efeito da concentração espermática/dose inseminante, independentemente do jumento utilizado	178
Tabela 28.	Parâmetros de controle e de resultados de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, considerando-se o efeito do jumento, independentemente da concentração espermática/dose inseminante	182
Tabela 29.	Efeito do jumento e do diluidor sobre a motilidade espermática, avaliada após a coleta (Fresco), após a pré-diluição (PD), previamente à inseminação (Pré-IA) e à diferentes períodos de estocagem do sêmen à 5°C (24, 48 e 72 horas), em contêiner proposto por Palhares (1997).....	202
Tabela 30.	Efeito do jumento e do diluidor sobre o vigor espermático, avaliada após a coleta (Fresco), após a pré-diluição (PD), previamente à inseminação (Pré-IA) e à diferentes períodos de estocagem do sêmen à 5°C (24, 48 e 72 horas), em contêiner proposto por Palhares (1997).....	202
Tabela 31.	Parâmetros de controle e de resultados de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, considerando-se o efeito do jumento e do diluidor utilizado.	237
Tabela 32.	Parâmetros de controle e de resultados de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, considerando-se o efeito do jumento e da concentração espermática/dose inseminante utilizada	309

LISTA DE ANÁLISES ESTATÍSTICAS

7.1.	Análises estatísticas referentes ao Experimento I - Caracterização dos jatos que compõem a fração espermática rica do ejaculado de jumentos	208
7.1.1.	Análises estatísticas referentes à Tabela 15	208
Análise 1.	Análise dos fatores capazes de influenciar a motilidade espermática dos jatos que compõem a fração rica do ejaculado de jumentos.....	208
Análise 2.	Análise dos fatores capazes de influenciar o volume de sêmen dos jatos que compõem a fração rica do ejaculado de jumentos.....	208
Análise 3.	Análise dos fatores capazes de influenciar a concentração espermática/mL de sêmen dos jatos que compõem a fração rica do ejaculado de jumentos.....	209
Análise 4.	Comparação do vigor espermático, entre os jatos que compõem a fração rica do ejaculado, para o jumento 1.....	209
Análise 5.	Comparação do vigor espermático entre os jatos que compõem a fração rica do ejaculado, para o jumento 2.....	209
Análise 6.	Comparação do vigor espermático entre os jatos que compõem a fração rica do ejaculado, para o jumento 3.....	209
Análise 7.	Comparação do vigor espermático entre os jatos que compõem a fração rica do ejaculado, para o jumento 4.....	209
Análise 8.	Comparação do vigor espermático entre os jatos que compõem a fração rica do ejaculado, para o jumento 5.....	210
Análise 9.	Comparação do vigor espermático do jato 1, entre os jumentos 1 e 4.....	210
Análise 10.	Comparação do vigor espermático do jato 1, entre os jumentos 2 e 4.....	210
Análise 11.	Comparação do vigor espermático do jato 1, entre os jumentos 3 e 4.....	210
Análise 12.	Comparação do vigor espermático do jato 1, entre os jumentos 4 e 5.....	210
Análise 13.	Comparação do vigor espermático do jato 1, entre os jumentos 1 e 2.....	210
Análise 14.	Comparação do vigor espermático do jato 1, entre os jumentos 1 e 3.....	210
Análise 15.	Comparação do vigor espermático do jato 1, entre os jumentos 1 e 5.....	211
Análise 16.	Comparação do vigor espermático do jato 1, entre os jumentos 2 e 3.....	211
Análise 17.	Comparação do vigor espermático do jato 1, entre os jumentos 2 e 5.....	211
Análise 18.	Comparação do vigor espermático do jato 1, entre os jumentos 3 e 5.....	211
Análise 19.	Comparação do vigor espermático do jato 2, entre os jumentos.....	211
Análise 20.	Comparação do vigor espermático do jato 3, entre os jumentos.....	211
7.1.2.	Análises estatísticas referentes à Tabela 16.....	211
Análise 21.	Comparação da concentração espermática/mL de sêmen entre os jatos que compõem a fração rica do ejaculado, independentemente do jumento.....	212
7.2.	Análises estatísticas referentes ao Experimento II- Efeito de diluidores e do resfriamento sobre as características físicas do sêmen de jumentos e sobre a taxa de gestação éguas inseminadas.....	212
7.2.1.	Análises estatísticas referentes ao Experimento IIa - Efeito de diluidores e do resfriamento sobre as características físicas do sêmen, avaliadas a diferentes períodos de estocagem, em contêiner proposto por Palhares (1997).....	212
7.2.1.1.	Análises estatísticas referentes à Tabela 17.....	212
Análise 22.	Comparação do número de montas/ejaculado, entre os jumentos.....	212
Análise 23.	Comparação do volume de sêmen da fração rica, entre os jumentos.....	212
Análise 24.	Comparação da motilidade espermática no sêmen <i>in natura</i> , entre os jumentos.....	213
Análise 25.	Comparação da motilidade espermática do sêmen diluído, entre os jumentos.....	213
Análise 26.	Comparação da concentração espermática/mL de sêmen, entre os jumentos.....	213
Análise 27.	Comparação do número de espermatozóides móveis/mL de sêmen, entre os jumentos.....	214
Análise 28.	Comparação do número total de espermatozóides/ejaculado, entre os jumentos.....	214
Análise 29.	Comparação do número total de espermatozóides móveis/ ejaculado, entre os jumentos.....	214
Análise 30.	Comparação do vigor espermático do sêmen <i>in natura</i> , entre jumentos.....	214

Análise 31.	Comparação do vigor espermático do sêmen <i>in natura</i> , entre os jumentos 1 e 2....	215
Análise 32.	Comparação do vigor espermático do sêmen <i>in natura</i> , entre os jumentos 1 e 3....	215
Análise 33.	Comparação do vigor espermático do sêmen <i>in natura</i> , entre os jumentos 1 e 4....	215
Análise 34.	Comparação do vigor espermático do sêmen <i>in natura</i> , entre os jumentos 1 e 5....	215
Análise 35.	Comparação do vigor espermático do sêmen <i>in natura</i> , entre os jumentos 2 e 3....	215
Análise 36.	Comparação do vigor espermático do sêmen <i>in natura</i> , entre os jumentos 2 e 4....	215
Análise 37.	Comparação do vigor espermático do sêmen <i>in natura</i> , entre os jumentos 2 e 5....	215
Análise 38.	Comparação do vigor espermático do sêmen <i>in natura</i> , entre os jumentos 3 e 4....	216
Análise 39.	Comparação do vigor espermático do sêmen <i>in natura</i> , entre os jumentos 3 e 5....	216
Análise 40.	Comparação do vigor espermático do sêmen <i>in natura</i> , entre os jumentos 4 e 5....	216
Análise 41.	Comparação do volume de sêmen/dose inseminante, entre os jumentos.....	216
Análise 42.	Comparação do volume de diluidor /dose inseminante, entre os jumentos.....	216
Análise 43.	Comparação do número de doses inseminantes/ ejaculado, entre os jumentos.....	217
7.2.1.2.	Análises estatísticas referentes à Tabela 20.....	217
Análise 44.	Comparação da motilidade espermática entre jumentos e tratamentos (diluidores), no tempo após a pré-diluição, excluindo-se o jumento 4.....	217
Análise 45.	Comparação da motilidade espermática, entre jumentos e tratamentos, no tempo pré-inseminação, excluindo-se o jumento 4.....	218
Análise 46.	Comparação da motilidade espermática, entre jumentos e tratamentos, no tempo 24 horas, excluindo-se o jumento 4.....	218
Análise 47.	Comparação da motilidade espermática, entre jumentos e tratamentos, no tempo 48 horas, excluindo-se o jumento 4.....	219
Análise 48.	Comparação da motilidade espermática entre jumentos e tratamentos, nos diferentes períodos de avaliação, excluindo-se o jumento 4 e o período de avaliação 72h.....	219
7.2.1.3.	Análises estatísticas referentes à Tabela 21.....	220
Análise 49.	Comparação do vigor espermático, entre jumentos e tratamentos, no tempo após a pré-diluição, excluindo-se o jumento 4.....	220
Análise 50.	Comparação do vigor espermático, entre jumentos e tratamentos, no tempo pré-inseminação, excluindo-se o jumento 4.....	220
Análise 51.	Comparação do vigor espermático, entre jumentos e tratamentos, no tempo 24 horas, excluindo-se o jumento 4.....	220
Análise 52.	Comparação do vigor espermático, entre jumentos e tratamentos, no tempo 48 horas, excluindo-se o jumento 4.....	220
Análise 53.	Comparação do vigor entre tratamentos e diferentes períodos de avaliação, para o jumento 1, excluindo-se o período de avaliação 72h.....	220
Análise 54.	Comparação do vigor espermático, entre os tratamentos LPDG e LGO, no período Fresco, para o jumento 1.....	221
Análise 55.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, no tratamento LPDG e o sêmen pré-diluído em diluidor LGO, para o jumento 1.....	221
Análise 56.	Comparação do vigor espermático entre os períodos de avaliação fresco e após a pré-diluição, no tratamento LPDG, para o jumento 1.....	221
Análise 57.	Comparação do vigor espermático do sêmen do jumento 1, diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação fresco e pré-inseminação.....	221
Análise 58.	Comparação do vigor espermático do sêmen do jumento 1, diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação fresco e 24 horas.....	221
Análise 59.	Comparação do vigor espermático entre sêmen a fresco, no tratamento LPDG, e o sêmen diluído em LGO, após 24 horas de armazenamento, para o jumento 1	221
Análise 60.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen a fresco e o sêmen diluído em LPDG, após 48 horas de armazenamento, para o jumento 1.....	221
Análise 61.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, no tratamento LPDG, e o sêmen diluído no diluidor LGO, no período pré-inseminação.....	222
Análise 62.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, no tratamento LPDG, e o sêmen diluído no diluidor LGO, após 48 horas de armazenamento, para o	

	jumento 1.....	222
Análise 63.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e pré-diluído, no tratamento LGO, para o jumento 1.....	222
Análise 64.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, no tratamento LGO, e o sêmen pós-diluição, no tratamento LPDG, para o jumento 1.....	222
Análise 65.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, no tratamento LGO, e o sêmen diluído em LPDG, no período de avaliação pré-inseminação, para o jumento 1.....	222
Análise 66.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, no tratamento LGO, e o sêmen diluído em LPDG, após 24 horas de armazenamento, para o jumento 1.....	222
Análise 67.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, no tratamento LGO e o armazenado por 24 horas, do jumento 1.....	223
Análise 68.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, no tratamento LGO e o sêmen diluído em LPDG e armazenado por 48 horas, para o jumento 1.....	223
Análise 69.	Comparação do vigor espermático do sêmen entre os períodos de avaliação fresco e pré-inseminação, para o sêmen do jumento 1, diluído em LGO.....	223
Análise 70.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen a fresco e o diluído em diluidor LGO e armazenado por 48 horas, para o jumento 1.....	223
Análise 71.	Comparação do vigor espermático, no período após a pré-diluição, entre o sêmen diluído no diluidor LPDG ou no diluidor LGO, para o jumento 1.....	223
Análise 72.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído em LGO, no momento após a pré-diluição, e o diluído em LPDG, no momento pré-inseminação, para o jumento 1.....	223
Análise 73.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído em LGO, no momento após a pré-diluição, e o diluído em LPDG, após 24 horas de armazenamento, para o jumento 1.....	224
Análise 74.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído em LGO, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 24 horas, para o jumento 1.....	224
Análise 75.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído em LGO, no período pré-diluição, e o diluído em LPDG, após 48 horas de armazenamento.....	224
Análise 76.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e pré-inseminação, para o jumento 1.....	224
Análise 77.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 24 horas, para o jumento 1.....	224
Análise 78.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 48 horas, para o jumento 1.....	224
Análise 79.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e pré-inseminação, para o jumento 1.....	224
Análise 80.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 24 horas, para o jumento 1.....	225
Análise 81.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído em LPDG, no período após a pré-diluição, e o diluído em LGO, após 24 horas de armazenamento, para o jumento 1.....	225
Análise 82.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 48 horas, para o jumento 1.....	225
Análise 83.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído em LPDG, no período após a pré-diluição, e o diluído em LGO, no período pré-inseminação, para o jumento 1.....	225
Análise 84.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído em LPDG, no período após a pré-diluição, e o diluído em LGO, após 48 horas de armazenamento, para o jumento 1.....	225
Análise 85.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído em LPDG, entre o período de avaliação pré-inseminação e 24 horas, para o jumento 1.....	225
Análise 86.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído em LPDG, no período	

	de avaliação pré-inseminação, e o diluído em LGO, após 24 horas de armazenamento, para o jumento 1.....	226
Análise 87.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 48 horas, para o jumento 1.....	226
Análise 88.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LPDG ou no LGO, no período de avaliação pré-inseminação, para o jumento 1.....	226
Análise 89.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído em LPDG, no período pré-inseminação e o diluído em LGO, após 48 horas de armazenamento, para o jumento 1.....	226
Análise 90.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LPDG ou no LGO, no período de avaliação 24 horas, para o jumento 1.....	226
Análise 91.	Comparação do vigor espermático do sêmen do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação 24 e 48 horas, para o jumento 1.....	226
Análise 92.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação pré-inseminação, e o diluído em LPDG, após 24 horas de armazenamento, para o jumento 1.....	227
Análise 93.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação 24 horas, e o diluído em LGO, no período 48 horas, para o jumento 1.....	227
Análise 94.	Comparação do vigor espermático entre sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação 24 horas, e o diluído em LPDG, no período 48 horas, para o jumento 1.....	227
Análise 95.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 24 horas, para o jumento 1.....	227
Análise 96.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação 24 e 48 horas, para o jumento 1.....	227
Análise 97.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação pré-inseminação, e o diluído em LPDG, no período 48 horas, para o jumento 1.....	227
Análise 98.	Comparação do vigor espermático entre sêmen diluído no diluidor LPDG ou no LGO, no período de avaliação 48 horas, para o jumento 1.....	227
Análise 99.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 48 horas, para o jumento 1.....	228
Análise 100.	Comparação do vigor entre tratamentos e diferentes períodos de avaliação, para o jumento 2.....	228
Análise 101.	Comparação do vigor espermático, entre os tratamentos LPDG e LGO, no período Fresco, para o jumento 2.....	228
Análise 102.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição, para o jumento 2.....	228
Análise 103.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, no tratamento LPDG, e o diluído no diluidor LGO, no período de avaliação após a pré-diluição, para o jumento 2.....	228
Análise 104.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação pré-inseminação, para o jumento 2.....	228
Análise 105.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LPDG, no período de 24 horas, para o jumento 2.....	229
Análise 106.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação 48 horas, para o jumento 2.....	229
Análise 107.	Comparação do vigor espermático do sêmen fresco, tratamento LPDG, e o diluído em LGO, no período pré-inseminação, para o jumento 2.....	229
Análise 108.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, tratamento LPDG, e o diluído no diluidor LGO, no período de avaliação 24 horas, para o jumento 2.....	229
Análise 109.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, tratamento LPDG, e o diluído em LGO, no período 48 horas, para o jumento 2.....	229

Análise 110.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, tratamento LGO, e o diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição, para o jumento 2.....	229
Análise 111.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen a fresco e o diluído no diluidor LGO, no período de avaliação após a pré-diluição, para o jumento 2	230
Análise 112.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, tratamento LGO, e o diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação pré-inseminação, para o jumento 2.....	230
Análise 113.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, tratamento LGO, e o diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação 24 horas, para o jumento 2.....	230
Análise 114.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, tratamento LGO, e o diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação 48 horas, para o jumento 2.....	230
Análise 115.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LGO, no período de avaliação pré-inseminação, para o jumento 2.....	230
Análise 116.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LGO, no período de avaliação 24 horas, para o jumento 2.....	230
Análise 117.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LGO, no período de avaliação 48 horas, para o jumento 2.....	230
Análise 118.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LPDG ou LGO, no período de avaliação após a pré-diluição, para o jumento 2.....	231
Análise 119.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e pré-inseminação, para o jumento 2.....	231
Análise 120.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 24 horas, para o jumento 2.....	231
Análise 121.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 48 horas, para o jumento 2.....	231
Análise 122.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição, e o diluído em LGO, no período pré-inseminação, para o jumento 2.....	231
Análise 123.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição, e o diluído em LGO, no período 24 horas, para o jumento 2.....	231
Análise 124.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição, e o diluído em LGO, no período 48 horas, para o jumento 2.....	232
Análise 125.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação após a pré-diluição, e o diluído em LPDG, no período pré-inseminação, para o jumento 2.....	232
Análise 126.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação após a pré-diluição, e o diluído em LPDG, no período 24 horas, para o jumento 2.....	232
Análise 127.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação após a pré-diluição, e o diluído em LPDG, no período 48 horas, para o jumento 2.....	232
Análise 128.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e pré-inseminação, para o jumento 2.....	232
Análise 129.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 24 horas, para o jumento 2.....	232
Análise 130.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 48 horas, para o jumento 2.....	233
Análise 131.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 24 horas, para o jumento 2.....	233
Análise 132.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 48 horas, para o jumento 2.....	233

Análise 133.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LPDG ou no LGO, no período de avaliação pré-inseminação, para o jumento 2.....	233
Análise 134.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação pré-inseminação, e o diluído em LGO, no período 24 horas, para o jumento 2.....	233
Análise 135.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação pré-inseminação, e o diluído em LGO, no período 48 horas, para o jumento 2.....	233
Análise 136.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação 24 e 48 horas, para o jumento 2.....	233
Análise 137.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação pré-inseminação, e o diluído em LGO, no período 24 horas, para o jumento 2.....	234
Análise 138.	Comparação do vigor espermático entre sêmen diluído no diluidor LPDG ou LGO, no período de avaliação 24 horas, para o jumento 2.....	234
Análise 139.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação 24 horas, e o diluído em LGO, no período 48 horas, para o jumento 2.....	234
Análise 140.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação pré-inseminação, e o diluído em LPDG, no período 48 horas, para o jumento 2.....	234
Análise 141.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação 24 horas, e o diluído em LPDG, no período 48 horas, para o jumento 2.....	234
Análise 142.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LPDG ou LGO, no período de avaliação 48 horas, para o jumento 2.....	234
Análise 143.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 24 horas, para o jumento 2.....	235
Análise 144.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 48 horas, para o jumento 2.....	235
Análise 145.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação 24 e 48 horas, para o jumento 2.....	235
Análise 146.	Comparação do vigor entre tratamentos e diferentes períodos de avaliação, para o jumento 3.....	235
Análise 147.	Comparação do vigor do sêmen a fresco, entre os tratamentos LPDG e LGO, para o jumento 3.....	235
Análise 148.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição, para o jumento 3.....	235
Análise 149.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen a fresco, tratamento LPDG, e o sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação após a pré-diluição, para o jumento 3.....	236
Análise 150.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação pré-inseminação, para o jumento 3.....	236
Análise 151.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído em LPDG, no período de avaliação 24 horas, para o jumento 3.....	236
Análise 152.	Comparação do vigor espermático entre sêmen fresco, tratamento LPDG, e o diluído no diluidor LGO, no período de avaliação pré-inseminação, para o jumento 3.....	236
Análise 153.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen a fresco e o diluído no diluidor LPDG, após 48 horas de armazenamento, para o jumento 3.....	236
Análise 154.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, tratamento LPDG, e o diluído no diluidor LGO, após 24 horas de armazenamento, para o jumento 3.....	236
Análise 155.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, tratamento LPDG, e o diluído no diluidor LGO, após 48 horas de armazenamento, para o jumento 3.....	236

Análise 156.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, tratamento LGO, e o diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição, para o jumento 3.....	237
Análise 157.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LGO, no período de avaliação após a pré-diluição, para o jumento 3.....	237
Análise 158.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, tratamento LGO, e o diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação pré-inseminação, para o jumento 3.....	237
Análise 159.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, tratamento LGO e o diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação 24 horas, para o jumento 3....	237
Análise 160.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LGO, no período de avaliação pré-inseminação, para o jumento 3.....	237
Análise 161.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, tratamento LGO, e o sêmen diluído no diluidor LPDG, após 48 horas de armazenamento, para o jumento 3.....	237
Análise 162.	Comparação do vigor entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LGO, no período de avaliação 24 horas, para o jumento 3.....	238
Análise 163.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LGO, no período de avaliação 48 horas, para o jumento 3.....	238
Análise 164.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LPDG ou no LGO, no período de avaliação após a pré-diluição, para o jumento 3.....	238
Análise 165.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e pré-inseminação, para o jumento 3....	238
Análise 166.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 24 horas, para o jumento 3.....	238
Análise 167.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição, e o diluído em LGO, no período pré-inseminação, para o jumento 3.....	238
Análise 168.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 48 horas, para o jumento 3.....	239
Análise 169.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição, e o diluído em LGO, no período 24 horas, para o jumento 3.....	239
Análise 170.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição, e o diluído em LGO, no período 48 horas, para o jumento 3.....	239
Análise 171.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação após a pré-diluição, e o diluído em LPDG, no período pré-inseminação, para o jumento 3.....	239
Análise 172.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação após a pré-diluição, e o diluído em LPDG, no período 24 horas, para o jumento 3.....	239
Análise 173.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e pré-inseminação, para o jumento 3....	239
Análise 174.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação após a pré-diluição, e o diluído em LPDG, no período 48 horas, para o jumento 3.....	239
Análise 175.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 24 horas, para o jumento 3.....	240
Análise 176.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 48 horas, para o jumento 3.....	240
Análise 177.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 24 horas, para o jumento 3.....	240
Análise 178.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG ou no	

	LGO, no período de avaliação pré-inseminação, para o jumento 3.	240
Análise 179.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 48 horas, para o jumento 3.....	240
Análise 180.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação pré-inseminação, e o diluído em LGO, no período 24 horas, para o jumento 3.....	240
Análise 181.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação pré-inseminação, e o diluído em LGO, no período 48 horas, para o jumento 3.....	241
Análise 182.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação pré-inseminação, e o diluído em LPDG, no período 24 horas, para o jumento 3.....	241
Análise 183.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação 24 e 48 horas, para o jumento 3.....	241
Análise 184.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LPDG ou LGO, no período de avaliação 24 horas, para o jumento 3.....	241
Análise 185.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação 24 horas, e o diluído em LGO, no período 48 horas, para o jumento 3.....	241
Análise 186.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação pré-inseminação, e o diluído em LPDG, no período 48 horas, para o jumento 3.....	241
Análise 187.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 24 horas, para o jumento 3.....	242
Análise 188.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 48 horas, para o jumento 3.....	242
Análise 189.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação 24 horas, e o diluído em LPDG, no período 48 horas, para o jumento 3.....	242
Análise 190.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LPDG ou no LGO, no período de avaliação 48 horas, para o jumento 3.....	242
Análise 191.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação 24 e 48 horas, para o jumento 3.....	242
Análise 192.	Comparação do vigor espermático entre tratamentos e diferentes períodos de avaliação, para o jumento 5.	242
Análise 193.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, tratamento LPDG, e o diluído no diluidor LGO, no período de avaliação após a pré-diluição, para o jumento 5.....	242
Análise 194.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LGO, no período de avaliação após a pré-diluição, para o jumento 5.....	243
Análise 195.	Comparação do vigor espermático entre os tratamentos LPDG e LGO, no período de avaliação após a pré-diluição, para o jumento 5.....	243
Análise 196.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação após a pré-diluição, e o diluído em LPDG, no período pré-inseminação, para o jumento 5.....	243
Análise 197.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação após a pré-diluição, e o diluído em LPDG, no período 24 horas, para o jumento 5.....	243
Análise 198.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação após a pré-diluição, e o diluído em LPDG, no período 48 horas, para o jumento 5.....	243
Análise 199.	Comparação do vigor espermático do sêmen fresco e o diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e pré-inseminação, para o jumento 5.....	243

Análise 200.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 24 horas, para o jumento 5.....	244
Análise 201.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 48 horas, para o jumento 5.....	244
Análise 202.	Comparação do vigor espermático do sêmen fresco, entre os tratamentos LPDG e LGO, para o jumento 5.....	244
Análise 203.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição, para o jumento 5.....	244
Análise 204.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação pré-inseminação, para o jumento 5.....	244
Análise 205.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação 24 horas, para o jumento 5.....	244
Análise 206.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação 48 horas, para o jumento 5.....	245
Análise 207.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, tratamento LPDG, e o diluído no diluidor LGO, no período de avaliação pré-inseminação, para o jumento 5.....	245
Análise 208.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, tratamento LPDG, e o diluído no diluidor LGO, no período de avaliação 24 horas, para o jumento 5.....	245
Análise 209.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, tratamento LPDG, e o diluído no diluidor LGO, no período de avaliação 48 horas, para o jumento 5.....	245
Análise 210.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, tratamento LGO, e o diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição, para o jumento 5.....	245
Análise 211.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, tratamento LGO, e o diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação pré-inseminação, para o jumento 5.....	245
Análise 212.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, tratamento LGO, e o diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação 24 horas, para o jumento 5.....	245
Análise 213.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, tratamento LGO, e o diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação 48 horas, para o jumento 5.....	246
Análise 214.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LGO, no período de avaliação pré-inseminação, para o jumento 5.....	246
Análise 215.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LGO, no período de avaliação 24 horas, para o jumento 5.....	246
Análise 216.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LGO, no período de avaliação 48 horas, para o jumento 5.....	246
Análise 217.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e pré-inseminação, para o jumento 5.....	246
Análise 218.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 24 horas, para o jumento 5.....	246
Análise 219.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 48 horas, para o jumento 5.....	247
Análise 220.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição, e o diluído em LGO, no período pré-inseminação, para o jumento 5.....	247
Análise 221.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição, e o diluído em LGO, no período 24 horas, para o jumento 5.....	247
Análise 222.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição, e o diluído em LGO, no período 48 horas, para o jumento 5.....	247
Análise 223.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 24 horas, para o jumento 5.....	247

Análise 224.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 48 horas, para o jumento 5.....	247
Análise 225.	Comparação do vigor espermático entre os tratamentos LPDG e LGO, no período de avaliação pré-inseminação, para o jumento 5.....	248
Análise 226.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação pré-inseminação, e o diluído em LGO, no período 24 horas, para o jumento 5.....	248
Análise 227.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação pré-inseminação, e o diluído em LGO, no período 48 horas, para o jumento 5.....	248
Análise 228.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação 24 e 48 horas, para o jumento 5.....	248
Análise 229.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, no período pré-inseminação, e o diluído em LPDG, no período de avaliação 48 horas, para o jumento 5.....	248
Análise 230.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LPDG ou LGO, no período de avaliação 48 horas, para o jumento 5.....	248
Análise 231.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação 24 horas, e o diluído em LPDG, no período 48 horas, para o jumento 5.....	248
Análise 232.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação pré-inseminação, e o diluído em LPDG, no período 24 horas, para o jumento 5.....	249
Análise 233.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação 24 horas, e o diluído em LGO, no período 48 horas, para o jumento 5.....	249
Análise 234.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LPDG ou no LGO, no período de avaliação 24 horas, para o jumento 5.....	249
Análise 235.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 48 horas, para o jumento 5.....	249
Análise 236.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 24 horas, para o jumento 5.....	249
Análise 237.	Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação 24 e 48 horas, para o jumento 5.....	249
Análise 238.	Comparação do vigor espermático entre os jumentos, no tratamento LPDG e no período de avaliação fresco.....	250
Análise 239.	Comparação do vigor espermático entre os jumentos 1 e 5, para o tratamento LPDG, no período de avaliação fresco.....	250
Análise 240.	Comparação do vigor espermático entre os jumentos 1 e 2, para o tratamento LPDG, no período de avaliação fresco.....	250
Análise 241.	Comparação do vigor espermático entre os jumentos 1 e 3, para o tratamento LPDG, no período de avaliação fresco.....	250
Análise 242.	Comparação do vigor espermático entre os jumentos 2 e 5, para o tratamento LPDG, no período de avaliação fresco.....	250
Análise 243.	Comparação do vigor espermático entre os jumentos 3 e 5, para o tratamento LPDG, no período de avaliação fresco.....	250
Análise 244.	Comparação do vigor espermático entre os jumentos 2 e 3, para o tratamento LPDG, no período de avaliação fresco.....	251
Análise 245.	Comparação do vigor espermático entre os jumentos, no tratamento LPDG e no período de avaliação após a pré-diluição, excluindo-se o jumento 4.....	251
Análise 246.	Comparação do vigor espermático entre os jumentos 1 e 5, para o tratamento LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição.....	251
Análise 247.	Comparação do vigor espermático entre os jumentos 1 e 2, para o tratamento LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição.....	251

Análise 248.	Comparação do vigor espermático entre os jumentos 1 e 3, para o tratamento LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição.....	251
Análise 249.	Comparação do vigor espermático entre os jumentos 2 e 5, para o tratamento LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição.....	251
Análise 250.	Comparação do vigor espermático entre os jumentos 3 e 5, para o tratamento LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição.....	251
Análise 251.	Comparação do vigor espermático entre os jumentos 2 e 3, para o tratamento LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição.....	252
Análise 252.	Comparação do vigor espermático entre os jumentos, no tratamento LPDG e no período de avaliação pré-inseminação.....	252
Análise 253.	Comparação do vigor espermático entre os jumentos, no tratamento LPDG e no período de avaliação 24 horas.....	252
Análise 254.	Comparação do vigor espermático entre os jumentos, no tratamento LPDG e no período de avaliação 48 horas.....	252
Análise 255.	Comparação do vigor espermático entre os jumentos, no tratamento LGO e no período de avaliação fresco, excluindo-se o jumento 4.....	252
Análise 256.	Comparação do vigor espermático entre os jumentos 1 e 5, no tratamento LGO e no período de avaliação fresco.....	252
Análise 257.	Comparação do vigor espermático entre os jumentos 1 e 2, no tratamento LGO e no período de avaliação fresco.....	253
Análise 258.	Comparação do vigor espermático entre os jumentos 1 e 3, no tratamento LGO e no período de avaliação fresco.....	253
Análise 259.	Comparação do vigor espermático entre os jumentos 2 e 5, no tratamento LGO e no período de avaliação fresco.....	253
Análise 260.	Comparação do vigor espermático entre os jumentos 3 e 5, no tratamento LGO e no período de avaliação fresco.....	253
Análise 261.	Comparação do vigor espermático entre os jumentos 2 e 3, no tratamento LGO e no período de avaliação fresco.....	253
Análise 262.	Comparação do vigor espermático entre os jumentos, no tratamento LGO e no período de avaliação após a pré-diluição, excluindo-se o jumento 4.....	253
Análise 263.	Comparação do vigor espermático entre os jumentos, no tratamento LGO e no período de avaliação pré-inseminação, excluindo-se o jumento 4.....	254
Análise 264.	Comparação do vigor espermático entre os jumentos, no tratamento LGO e no período de avaliação 24 horas, excluindo-se o jumento 4.....	254
Análise 265.	Comparação do vigor espermático entre os jumentos, no tratamento LGO e no período de avaliação 48 horas, excluindo-se o jumento 4.....	254
Análise 266.	Comparação do vigor espermático entre os jumentos 1 e 5, no tratamento LGO e no período de avaliação 48 horas.....	254
Análise 267.	Comparação do vigor espermático entre os jumentos 1 e 2, no tratamento LGO e no período de avaliação 48 horas.....	254
Análise 268.	Comparação do vigor espermático entre os jumentos 1 e 3, no tratamento LGO e no período de avaliação 48 horas.....	254
Análise 269.	Comparação do vigor espermático entre os jumentos 2 e 5, no tratamento LGO e no período de avaliação 48 horas.....	254
Análise 270.	Comparação do vigor espermático entre os jumentos 3 e 5, no tratamento LGO e no período de avaliação 48 horas.....	255
Análise 271.	Comparação do vigor espermático entre os jumentos 2 e 3, no tratamento LGO e no período de avaliação 48 horas.....	255
7.2.2.	Análises estatísticas referentes ao Experimento IIb - Taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen asinino diluído nos diluidores de Leite em Pó Desnatado – Glicose (LPDG) ou Lactose – Gema de Ovo modificado (LGO) e resfriado em contêiner proposto por Palhares (1997).....	255
7.2.2.1.	Análises estatísticas referentes à Tabela 31.....	256
Análise 272.	Comparação da idade das éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e	256

	resfriado, considerando-se o efeito de jumentos e tratamentos.....	
Análise 273.	Comparação do volume de sêmen/dose inseminante entre jumentos e tratamentos.....	256
Análise 274.	Comparação do volume de diluidor/dose inseminante, entre jumentos e tratamentos.....	256
Análise 275.	Comparação do número de espermatozóides/dose inseminante, entre jumentos e tratamentos.....	257
Análise 276.	Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e a sua pré-diluição, em minutos, entre jumentos e tratamentos.....	257
Análise 277.	Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e a sua diluição, em minutos, entre jumentos e tratamentos.....	258
Análise 278.	Comparação entre a coleta do sêmen e seu resfriamento, em minutos, entre jumentos e tratamentos.....	258
Análise 279.	Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e a inseminação artificial, em horas, entre jumentos e tratamentos.....	258
Análise 280.	Determinação da interação jumento x tratamento para a variável número de inseminações/ ciclo.....	259
Análise 281.	Comparação do número de inseminações/ciclo, entre os jumentos 1 e 2, no tratamento LPDG.....	259
Análise 282.	Comparação do número de inseminações/ciclo, entre os jumentos 1 e 3, no tratamento LPDG.....	259
Análise 283.	Comparação do número de inseminações/ciclo, entre os jumentos 1 e 4, no tratamento LPDG.....	259
Análise 284.	Comparação do número de inseminações/ciclo, entre os jumentos 1 e 5, no tratamento LPDG.....	259
Análise 285.	Comparação do número de inseminações/ciclo, entre os jumentos 2 e 3, no tratamento LPDG.....	259
Análise 286.	Comparação do número de inseminações/ciclo, entre os jumentos 2 e 4, no tratamento LPDG.....	260
Análise 287.	Comparação do número de inseminações/ciclo, entre os jumentos 2 e 5, no tratamento LPDG.....	260
Análise 288.	Comparação do número de inseminações/ciclo, entre os jumentos 3 e 4, no tratamento LPDG.....	260
Análise 289.	Comparação do número de inseminações/ciclo, entre os jumentos 3 e 5, no tratamento LPDG.....	260
Análise 290.	Comparação do número de inseminações/ciclo, entre os jumentos 4 e 5, no tratamento LPDG.....	260
Análise 291.	Comparação do número de inseminações/ciclo, entre os jumentos 1 e 2, no tratamento LGO.....	260
Análise 292.	Comparação do número de inseminações/ciclo, entre os jumentos 1 e 3, no tratamento LGO.....	261
Análise 293.	Comparação do número de inseminações/ciclo, entre os jumentos 1 e 4, no tratamento LGO.....	261
Análise 294.	Comparação do número de inseminações/ciclo, entre os jumentos 1 e 5, no tratamento LGO.....	261
Análise 295.	Comparação do número de inseminações/ciclo, entre os jumentos 2 e 3, no tratamento LGO.....	261
Análise 296.	Comparação do número de inseminações/ciclo, entre os jumentos 2 e 4, no tratamento LGO.....	261
Análise 297.	Comparação do número de inseminações/ciclo, entre os jumentos 2 e 5, no tratamento LGO.....	261
Análise 298.	Comparação do número de inseminações/ciclo, entre os jumentos 3 e 4, no tratamento LGO.....	261
Análise 299.	Comparação do número de inseminações/ciclo, entre os jumentos 3 e 5, no	262

	tratamento LGO.....	
Análise 300.	Comparação do número de inseminações/ciclo, entre os jumentos 4 e 5, no tratamento LGO.....	262
Análise 301.	Comparação da taxa de gestação/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado para o jumento 1....	262
Análise 302.	Comparação da taxa de gestação/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado, para o jumento 2...	262
Análise 303.	Comparação da taxa de gestação/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado, para o jumento 3...	262
Análise 304.	Comparação da taxa de gestação/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado, para o jumento 4...	262
Análise 305.	Comparação da taxa de gestação/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado, para o jumento 5...	263
7.2.2.2.	Análises referentes à Tabela 22.....	263
Análise 306.	Comparação da idade das éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado.....	263
Análise 307.	Comparação do volume de sêmen/dose inseminante de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado.....	263
Análise 308.	Comparação do volume de diluidor/dose inseminante de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado.....	263
Análise 309.	Comparação do número de espermatozoides/dose inseminante de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado.....	264
Análise 310.	Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e a sua pré-diluição, em minutos, para o sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado.....	264
Análise 311.	Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e a sua diluição, em minutos, para o sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado.....	264
Análise 312.	Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e o seu resfriamento, em minutos, para o sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado.....	264
Análise 313.	Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e a inseminação artificial, em horas, de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado.....	264
Análise 314.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado.....	265
Análise 315.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado, do jumento 1.....	265
Análise 316.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado, do jumento 2.....	265
Análise 317.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado do jumento 3.....	265
Análise 318.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado do jumento 4.....	265
Análise 319.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado do jumento 5.....	265
Análise 320.	Comparação da taxa de gestação/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado, independentemente do jumento utilizado.....	266
Análise 321.	Comparação da taxa de gestação/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG e resfriado, entre jumentos.....	266
Análise 322.	Comparação da taxa de gestação/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído no diluidore LGO, e resfriado, entre jumentos.....	266
7.2.2.3.	Análises referentes à Tabela 23.....	266

Análise 323.	Comparação da idade das éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, entre jumentos, independentemente do tratamento.....	266
Análise 324.	Comparação do volume de sêmen/dose inseminante de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, entre os jumentos, independentemente do tratamento.....	267
Análise 325.	Comparação do volume de diluidor/dose inseminante de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, entre jumentos, independentemente do tratamento.....	267
Análise 326.	Comparação do número de espermatozoides/dose inseminante de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, entre jumentos, independentemente do tratamento.....	268
Análise 327.	Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e a sua pré-diluição, em minutos, de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, entre jumentos, independentemente do tratamento.....	268
Análise 328.	Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e a sua diluição, em minutos, de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, entre jumentos, independentemente do tratamento.....	268
Análise 329.	Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e o seu resfriamento, em minutos, de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, entre jumentos, independentemente do tratamento.....	269
Análise 330.	Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e a inseminação artificial, em horas, de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, entre jumentos, independentemente do tratamento.....	269
Análise 331.	Comparação da taxa de gestação/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, entre jumentos, independentemente do tratamento.....	270
Análise 332.	Comparação da idade das éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado, após agrupamento em duas faixas etárias – até 12,5 anos e maior ou igual a 13 anos.....	270
Análise 333.	Efeito da idade sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado.....	270
Análise 334.	Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e a última inseminação artificial, após o agrupamento em intervalos até 18 horas e maior que 18 horas.....	271
Análise 335.	Efeito do intervalo entre a coleta do sêmen e a inseminação artificial sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado.....	271
Análise 336.	Efeito do número de inseminações/ciclo sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado, após o agrupamento em 1 IA/ciclo ou mais de 1 IA/ciclo.....	271
Análise 337.	Efeito do número de inseminações/ciclo sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado.....	272
Análise 338.	Efeito da categoria reprodutiva sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado.....	272
Análise 339.	Efeito do intervalo entre a inseminação e a ovulação sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado.....	272
7.3.	Análises estatísticas referentes ao Experimento III. Efeito da concentração espermática por dose inseminante e do resfriamento sobre as características físicas do sêmen de jumentos e sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas.....	272
7.3.1.	Análises estatísticas referentes ao Experimento IIIa. Efeito da concentração espermática por dose inseminante sobre as características físicas do sêmen	272

	de jumentos, avaliadas a diferentes períodos de estocagem em contêiner proposto por Palhares (1997).....	272
7.3.1.1.	Análises estatísticas referentes à Tabela 24.....	272
Análise 340.	Comparação do número de montas/ ejaculado, entre os jumentos.....	272
Análise 341.	Comparação do volume de sêmen da fração rica do ejaculado, entre jumentos.....	273
Análise 342.	Comparação da motilidade espermática do sêmen <i>in natura</i> , entre os jumentos.....	273
Análise 343.	Comparação da motilidade espermática após a pré-diluição, entre os jumentos.....	274
Análise 344.	Comparação do vigor espermático do sêmen <i>in natura</i> , entre os jumentos.....	274
Análise 345.	Comparação do vigor espermático do sêmen <i>in natura</i> , entre os jumentos 1 e 2....	274
Análise 346.	Comparação do vigor espermático do sêmen <i>in natura</i> , entre os jumentos 1 e 3....	274
Análise 347.	Comparação do vigor espermático do sêmen <i>in natura</i> , entre os jumentos 1 e 4....	274
Análise 348.	Comparação do vigor espermático do sêmen <i>in natura</i> , entre os jumentos 1 e 5....	274
Análise 349.	Comparação do vigor espermático do sêmen <i>in natura</i> , entre os jumentos 2 e 3....	275
Análise 350.	Comparação do vigor espermático do sêmen <i>in natura</i> , entre os jumentos 2 e 4....	275
Análise 351.	Comparação do vigor espermático do sêmen <i>in natura</i> , entre os jumentos 2 e 5....	275
Análise 352.	Comparação do vigor espermático do sêmen <i>in natura</i> , entre os jumentos 3 e 4....	275
Análise 353.	Comparação do vigor espermático do sêmen <i>in natura</i> , entre os jumentos 3 e 5....	275
Análise 354.	Comparação do vigor espermático do sêmen <i>in natura</i> , entre os jumentos 4 e 5....	275
Análise 355.	Comparação do número de espermatozóides/mL de sêmen, entre os jumentos.....	275
Análise 356.	Comparação do número de espermatozóides móveis/mL de sêmen, entre os jumentos.....	276
Análise 357.	Comparação do número total de espermatozóides/ejaculado, entre os jumentos.....	276
Análise 358.	Comparação do número total de espermatozóides móveis/ejaculado, entre os jumentos.....	277
Análise 359.	Comparação do volume de sêmen/dose inseminante, entre jumentos e tratamentos.....	277
Análise 360.	Comparação do volume de diluidor/dose inseminante, entre jumentos e tratamentos.....	278
Análise 361.	Comparação do número de doses inseminantes produzidas por ejaculado, entre jumentos e tratamentos.....	278
7.3.1.2.	Análises estatísticas referentes à Tabela 25.....	279
Análise 362.	Efeito do jumento e da concentração espermática/dose inseminante sobre a motilidade espermática do sêmen fracionado de jumentos, avaliados a diferentes períodos de armazenamento.....	279
7.3.1.3.	Análises estatísticas referentes à Tabela 26.....	279
Análise 363.	Efeito do jumento e da concentração espermática/dose inseminante sobre o vigor espermático do sêmen fracionado de jumentos da raça Pêga, avaliado a diferentes períodos de armazenamento.....	279
Análise 364.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos fresco e após a pré-diluição.....	279
Análise 365.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e pré-inseminação.....	280
Análise 366.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 24 horas.....	280
Análise 367.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 48 horas.....	280
Análise 368.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e pré-inseminação.....	280
Análise 369.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 4, no	280

	tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e 24 horas.....	
Análise 370.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e 48 horas.....	280
Análise 371.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 24 horas.....	281
Análise 372.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 48 horas.....	281
Análise 373.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação 24 e 48 horas.....	281
Análise 374.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e após a pré-diluição.....	281
Análise 375.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e pré-inseminação.....	281
Análise 376.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 24 horas.....	281
Análise 377.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 48 horas.....	282
Análise 378.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e pré-inseminação.....	282
Análise 379.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e 24 horas.....	282
Análise 380.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e 48 horas.....	282
Análise 381.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 24 horas.....	282
Análise 382.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 48 horas.....	282
Análise 383.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação 24 e 48 horas.....	283
Análise 384.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e após a pré-diluição.....	283
Análise 385.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e pré-inseminação.....	283
Análise 386.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 24 horas.....	283
Análise 387.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 1, no	283

	tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 48 horas.....	
Análise 388.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e pré-inseminação.....	283
Análise 389.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e 24 horas.....	284
Análise 390.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e 48 horas.....	284
Análise 391.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 24 horas.....	284
Análise 392.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 48 horas.....	284
Análise 393.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação 24 e 48 horas.....	284
Análise 394.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e após a pré-diluição.....	284
Análise 395.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e pré-inseminação.....	284
Análise 396.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 24 horas.....	285
Análise 397.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 48 horas.....	285
Análise 398.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e pré-inseminação.....	285
Análise 399.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e 24 horas.....	285
Análise 400.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e 48 horas.....	285
Análise 401.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 24 horas.....	285
Análise 402.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 48 horas.....	286
Análise 403.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação 24 e 48 horas.....	286
Análise 404.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e após a pré-diluição.....	286
Análise 405.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 3, no	286

	tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação 24 e 48 horas.....	
Análise 424.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e após a pré-diluição.....	289
Análise 425.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e pré-inseminação.....	289
Análise 426.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 24 horas.....	290
Análise 427.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 24 horas.....	290
Análise 428.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen a fresco e pré-inseminação.....	290
Análise 429.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen a fresco e 24 horas.....	290
Análise 430.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen a fresco e às 48 horas.....	290
Análise 431.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 24 horas.....	290
Análise 432.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 48 horas.....	291
Análise 433.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação 24 e 48 horas.....	291
Análise 434.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen a fresco e após a pré-diluição.....	291
Análise 435.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen após a pré-diluição e às 24 horas.....	291
Análise 436.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen após a pré-diluição e às 48 horas.....	291
Análise 437.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen a fresco e pré-inseminação.....	291
Análise 438.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen a fresco e às 24 horas.....	292
Análise 439.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen a fresco e às 48 horas.....	292
Análise 440.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen pré-inseminação e às 24 horas.....	292
Análise 441.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 2, no	292

	tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen a fresco e às 48 horas.....	
Análise 460.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen pré-inseminação e às 24 horas.....	296
Análise 461.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen pré-inseminação e às 48 horas.....	296
Análise 462.	Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen às 24 e 48 horas.....	296
Análise 463.	Comparação do vigor espermático do jumento 2, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, para o período de avaliação do sêmen a fresco.....	296
Análise 464.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen a fresco.....	296
Análise 465.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen a fresco.....	296
Análise 466.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen a fresco.....	297
Análise 467.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen a fresco.....	297
Análise 468.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen a fresco.....	297
Análise 469.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen a fresco.....	297
Análise 470.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen a fresco.....	297
Análise 471.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen a fresco.....	297
Análise 472.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen a fresco.....	298
Análise 473.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen a fresco.....	298
Análise 474.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen a fresco.....	298
Análise 475.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 3, no	298

	tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen a fresco.....	
Análise 476.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen a fresco.....	298
Análise 477.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen a fresco.....	298
Análise 478.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen a fresco.....	299
Análise 479.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen a fresco.....	299
Análise 480.	Comparação do vigor espermático do jumento 1, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, para o período de avaliação do sêmen a fresco.....	299
Análise 481.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen a fresco.....	299
Análise 482.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen a fresco.....	299
Análise 483.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen a fresco.....	299
Análise 484.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen a fresco.....	300
Análise 485.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen a fresco.....	300
Análise 486.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen a fresco.....	300
Análise 487.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen a fresco.....	300
Análise 488.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 3, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen a fresco.....	300
Análise 489.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen a fresco.....	300
Análise 490.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen a fresco.....	301

Análise 491.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen a fresco.....	301
Análise 492.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen a fresco.....	301
Análise 493.	Comparação do vigor espermático do jumento 3, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, para o período de avaliação do sêmen a fresco.....	301
Análise 494.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 3 e 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen a fresco.....	301
Análise 495.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen a fresco.....	301
Análise 496.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 3 e 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen a fresco.....	302
Análise 497.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen a fresco.....	302
Análise 498.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen a fresco.....	302
Análise 499.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 3 e 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen a fresco.....	302
Análise 500.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen a fresco.....	302
Análise 501.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 3 e 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen a fresco.....	302
Análise 502.	Comparação do vigor espermático do jumento 5, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, para o período de avaliação do sêmen a fresco.....	303
Análise 503.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 4 e 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen a fresco.....	303
Análise 504.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen a fresco.....	303
Análise 505.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen a fresco.....	303
Análise 506.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 4 e 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de	303

	avaliação do sêmen a fresco.....	
Análise 507.	Comparação do vigor espermático do jumento 4, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, para o período de avaliação do sêmen a fresco.....	303
Análise 508.	Comparação do vigor espermático do jumento 2, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	304
Análise 509.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	304
Análise 510.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	304
Análise 511.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	304
Análise 512.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	304
Análise 513.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	304
Análise 514.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	305
Análise 515.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	305
Análise 516.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	305
Análise 517.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	305
Análise 518.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 3, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	305
Análise 519.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	305
Análise 520.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	306
Análise 521.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento	

	400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	306
Análise 522.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	306
Análise 523.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	306
Análise 524.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	306
Análise 525.	Comparação do vigor espermático do jumento 3, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	306
Análise 526.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 3 e 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	307
Análise 527.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	307
Análise 528.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	307
Análise 529.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	307
Análise 530.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 3 e 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	307
Análise 531.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	307
Análise 532.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	308
Análise 533.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 3 e 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	308
Análise 534.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	308
Análise 535.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 3, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	308
Análise 536.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de	308

	avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	
Análise 537.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 3 e 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	308
Análise 538.	Comparação do vigor espermático do jumento 4, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	309
Análise 539.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	309
Análise 540.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	309
Análise 541.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 4 e 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	309
Análise 542.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	309
Análise 543.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	309
Análise 544.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	310
Análise 545.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	310
Análise 546.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 4 e 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	310
Análise 547.	Comparação do vigor espermático do jumento 1, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	310
Análise 548.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	310
Análise 549.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	310
Análise 550.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	311
Análise 551.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.....	311
Análise 552.	Comparação do vigor espermático do jumento 5, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen	311

	após a pré-diluição.....	
Análise 553.	Comparação do vigor espermático do jumento 2, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.....	311
Análise 554.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.....	311
Análise 555.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.....	311
Análise 556.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 3, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.....	311
Análise 557.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.....	312
Análise 558.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.....	312
Análise 559.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.....	312
Análise 560.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.....	312
Análise 561.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.....	312
Análise 562.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.....	313
Análise 563.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.....	313
Análise 564.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.....	313
Análise 565.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.....	313
Análise 566.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.....	313
Análise 567.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.....	313

Análise 584.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.....	316
Análise 585.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.....	316
Análise 586.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.....	317
Análise 587.	Comparação do vigor espermático do jumento 3, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.....	317
Análise 588.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.....	317
Análise 589.	Comparação do vigor espermático do jumento 1, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.....	317
Análise 590.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.....	317
Análise 591.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.....	317
Análise 592.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.....	318
Análise 593.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 4 e 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.....	318
Análise 594.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 3 e 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.....	318
Análise 595.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.....	318
Análise 596.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.....	318
Análise 597.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 3 e 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.....	318
Análise 598.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 24 horas.....	319
Análise 599.	Comparação do vigor espermático do jumento 2, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas..	319
Análise 600.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 2, no	

	tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 24 horas.....	319
Análise 601.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 24 horas.....	319
Análise 602.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.....	319
Análise 603.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.....	319
Análise 604.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.....	320
Análise 605.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 3, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 24 horas.....	320
Análise 606.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.....	320
Análise 607.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.....	320
Análise 608.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 24 horas.....	320
Análise 609.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 4 e 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 24 horas.....	320
Análise 610.	Comparação do vigor espermático do jumento 5, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas..	321
Análise 611.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.....	321
Análise 612.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.....	321
Análise 613.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 3 e 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 24 horas.....	321
Análise 614.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.....	321
Análise 615.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de	321

	avaliação 24 horas.....	
Análise 616.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.....	322
Análise 617.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 24 horas.....	322
Análise 618.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 24 horas.....	322
Análise 619.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 24 horas.....	322
Análise 620.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.....	322
Análise 621.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 24 horas.....	322
Análise 622.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 24 horas.....	323
Análise 623.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.....	323
Análise 624.	Comparação do vigor espermático do jumento 1, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas..	323
Análise 625.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.....	323
Análise 626.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 3, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 24 horas.....	323
Análise 627.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.....	323
Análise 628.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.....	324
Análise 629.	Comparação do vigor espermático do jumento 4, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas..	324
Análise 630.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 3 e 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período 24 horas.....	324
Análise 631.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.....	324

Análise 632.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 24 horas.....	324
Análise 633.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 4 e 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 24 horas.....	324
Análise 634.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.....	325
Análise 635.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 3 e 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 24 horas.....	325
Análise 636.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 24 horas.....	325
Análise 637.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.....	325
Análise 638.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 24 horas.....	325
Análise 639.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.....	325
Análise 640.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 3 e 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 24 horas.....	326
Análise 641.	Comparação do vigor espermático do jumento 3, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas..	326
Análise 642.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 48 horas.....	326
Análise 643.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.....	326
Análise 644.	Comparação do vigor espermático do jumento 5, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas..	326
Análise 645.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen 48 horas.....	326
Análise 646.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 3 e 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 48 horas.....	327
Análise 647.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.....	327
Análise 648.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 4 e 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de	327

	avaliação do sêmen 48 horas.....	
Análise 649.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.....	327
Análise 650.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 48 horas.....	327
Análise 651.	Comparação do vigor espermático do jumento 2, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas..	327
Análise 652.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.....	328
Análise 653.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.....	328
Análise 654.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 3, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 48 horas.....	328
Análise 655.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.....	328
Análise 656.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen 48 horas.....	328
Análise 657.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.....	328
Análise 658.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 48 horas.....	329
Análise 659.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 48 horas.....	329
Análise 660.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 48 horas.....	329
Análise 661.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.....	329
Análise 662.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen 48 horas.....	329
Análise 663.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.....	329
Análise 664.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de	330

	avaliação 48 horas.....	
Análise 665.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.....	330
Análise 666.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 3 e 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.....	330
Análise 667.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.....	330
Análise 668.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 4 e 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 48 horas.....	330
Análise 669.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.....	330
Análise 670.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 48 horas.....	331
Análise 671.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.....	331
Análise 672.	Comparação do vigor espermático do jumento 3, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas..	331
Análise 673.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 3 e 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 48 horas.....	331
Análise 674.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.....	331
Análise 675.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 48 horas.....	331
Análise 676.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.....	332
Análise 677.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.....	332
Análise 678.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 3 e 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 48 horas.....	332
Análise 679.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.....	332
Análise 680.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 3, no	

	tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 48 horas.....	332
Análise 681.	Comparação do vigor espermático do jumento 4, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas..	332
Análise 682.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.....	333
Análise 683.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.....	333
Análise 684.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.....	333
Análise 685.	Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.....	333
Análise 686.	Comparação do vigor espermático do jumento 1, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas..	333
7.3.2.	Análises estatísticas referentes ao Experimento IIIb. Efeito da concentração espermática por dose inseminante sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen asinino diluído, resfriado e estocado, em contêiner proposto por Palhares (1997).....	333
7.3.2.1.	Análises estatísticas referentes à Tabela 32.....	334
Análise 687.	Comparação da idade das éguas inseminadas com 400 ou 800 milhões de espermatozóides/ dose inseminante, diluídos e resfriados, entre jumentos e tratamentos.....	334
Análise 688.	Comparação do volume de sêmen/dose inseminante de éguas inseminadas com 400 ou 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, diluídos e resfriados, entre jumentos e tratamentos.....	334
Análise 689.	Comparação do volume de diluidor/dose inseminante de éguas inseminadas com 400 ou 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, diluídos e resfriados, entre jumentos e tratamentos.....	335
Análise 690.	Comparação do número de espermatozóides/dose inseminante de éguas inseminadas com 400 ou 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, diluídos e resfriados, entre jumentos e tratamentos.....	335
Análise 691.	Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e a sua pré-diluição, de éguas inseminadas com 400 ou 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, diluídos e resfriados, entre jumentos e tratamentos.....	336
Análise 692.	Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e a sua diluição, para éguas inseminadas com 400 ou 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, diluídos e resfriados, entre jumentos e tratamentos.....	336
Análise 693.	Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e o seu resfriamento, para éguas inseminadas com 400 ou 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, diluídos e resfriados, entre jumentos e tratamentos.....	336
Análise 694.	Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e a inseminação artificial de éguas com 400 ou 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, diluídos e resfriados, entre jumentos e tratamentos.....	337
Análise 695.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 400 ou 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, diluídos e resfriados, entre jumentos e tratamentos.....	337
Análise 696.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 800	

	milhões de espermatozóides/dose inseminante, diluídos e resfriados, entre os jumentos 1 e 3.....	337
Análise 697.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, diluídos e resfriados, entre os jumentos 2 e 3.....	338
Análise 698.	Comparação do número de inseminações/ciclo entre éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides/dose, do jumento 1, ou 800 milhões de espermatozóides/dose, do jumento 3, diluídos e resfriados.....	338
Análise 699.	Comparação do número de inseminações/ciclo entre éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides/dose, do jumento 5, ou 800 milhões de espermatozóides/dose, do jumento 3, diluídos e resfriados.....	338
Análise 700.	Comparação do número de inseminações/ciclo entre éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides, do jumento 2, ou 800 milhões de espermatozóides, do jumento 3, diluídos e resfriados.....	338
Análise 701.	Comparação do número de inseminações/ciclo entre éguas inseminadas com 400 ou 800 milhões de espermatozóides diluídos e resfriados, do jumento 3.....	338
Análise 702.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 800 milhões de espermatozóides, diluídos e resfriados, entre os jumentos 3 e 4.....	338
Análise 703.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 800 milhões de espermatozóides, diluídos e resfriados, entre os jumentos 3 e 5.....	339
Análise 704.	Comparação do número de inseminações/ciclo entre éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides, do jumento 4, ou 800 milhões de espermatozóides, do jumento 3, diluídos e resfriados.....	339
Análise 705.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 800 milhões de espermatozóides, diluídos e resfriados, entre os jumentos 1 e 2.....	339
Análise 706.	Comparação do número de inseminações/ciclo entre éguas inseminadas com 400 ou 800 milhões de espermatozóides, diluídos e resfriados, do jumento 1.....	339
Análise 707.	Comparação do número de inseminações/ciclo entre éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides, do jumento 5, ou 800 milhões de espermatozóides, do jumento 1, diluídos e resfriados.....	339
Análise 708.	Comparação do número de inseminações/ciclo entre éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides, do jumento 2, ou 800 milhões de espermatozóides, do jumento 1, diluídos e resfriados.....	339
Análise 709.	Comparação do número de inseminações/ciclo entre éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides, do jumento 3, ou 800 milhões de espermatozóides, do jumento 1, diluídos e resfriados.....	339
Análise 710.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 800 milhões de espermatozóides, diluídos e resfriados, entre os jumentos 1 e 4.....	340
Análise 711.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 800 milhões de espermatozóides, diluídos e resfriados, entre os jumentos 1 e 5.....	340
Análise 712.	Comparação do número de inseminações/ciclo entre éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides, do jumento 4, ou 800 milhões de espermatozóides, do jumento 1, diluídos e resfriados.....	340
Análise 713.	Comparação do número de inseminações/ciclo entre éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides, do jumento 1, ou 800 milhões de espermatozóides, do jumento 2, diluídos e resfriados.....	340
Análise 714.	Comparação do número de inseminações/ciclo entre éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides, do jumento 5, ou 800 milhões de espermatozóides, do jumento 2, diluídos e resfriados.....	340
Análise 715.	Comparação do número de inseminações/ciclo entre éguas inseminadas com 400 milhões ou 800 milhões de espermatozóides, diluídos e resfriados, do jumento 2..	340
Análise 716.	Comparação do número de inseminações/ciclo entre éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides, do jumento 3, ou 800 milhões de espermatozóides, do jumento 2, diluídos e resfriados.....	341

Análise 740.	Comparação da taxa de gestação/ciclo entre éguas inseminadas com 400 ou 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, diluídos e resfriados, para o jumento 1.....	344
Análise 741.	Comparação da taxa de gestação/ciclo entre éguas inseminadas com 400 ou 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, diluídos e resfriados, para o jumento 2.....	345
Análise 742.	Comparação da taxa de gestação/ciclo entre éguas inseminadas com 400 ou 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, diluídos e resfriados, para o jumento 3.....	345
Análise 743.	Comparação da taxa de gestação/ciclo entre éguas inseminadas com 400 ou 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, diluídos e resfriados, para o jumento 4.....	345
Análise 744.	Comparação da taxa de gestação/ciclo entre éguas inseminadas com 400 ou 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, diluídos e resfriados, para o jumento 5.....	345
7.3.2.2.	Análises referentes à Tabela 27.....	345
Análise 745.	Comparação da idade das éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozóides.....	346
Análise 746.	Comparação do volume de sêmen/dose inseminante das éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozóides.....	346
Análise 747.	Comparação do volume de diluidor/dose inseminante das éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozóides.....	346
Análise 748.	Comparação do número de espermatozóides/dose inseminante de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozóides.....	346
Análise 749.	Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e a sua pré-diluição, para éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozóides.....	346
Análise 750.	Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e a sua diluição para éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozóides.....	346
Análise 751.	Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e o seu resfriamento para éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozóides.....	346
Análise 752.	Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e a inseminação artificial de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozóides.....	347
Análise 753.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozóides.....	347
Análise 754.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozóides, para o jumento 1.....	347
Análise 755.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozóides, para o jumento 2.....	347
Análise 756.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozóides, para o jumento 3.....	347
Análise 757.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800	

	milhões de espermatozoides, para o jumento 4.....	347
Análise 758.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozoides, para o jumento 5.....	348
Análise 759.	Comparação da taxa de gestação/ciclo de éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os jumentos.....	348
Análise 760.	Comparação da taxa de gestação/ciclo de éguas inseminadas com 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os jumentos.....	348
Análise 761.	Comparação da taxa de gestação/ciclo entre éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozoides, independentemente do jumento utilizado.....	348
Análise 762.	Efeito do intervalo entre a inseminação artificial e a ovulação sobre a taxa de gestação/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozoides, independentemente do jumento.....	348
Análise 763.	Comparação da idade das éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozoides, após agrupamento em duas faixas etárias – até 12,5 anos e maior ou igual a 13 anos.....	349
Análise 764.	Efeito da idade sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozoides.....	349
Análise 765.	Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e a última inseminação artificial, após o agrupamento em intervalos até 18 horas e maior que 18 horas.....	349
Análise 766.	Efeito do intervalo entre a coleta do sêmen e a última inseminação artificial de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozoides.....	349
Análise 767.	Efeito do número de inseminações/ciclo sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozoides, após o agrupamento em 11A/ciclo ou mais de 11A/ciclo.....	350
Análise 768.	Efeito do número de inseminações/ciclo sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozoides.....	350
Análise 769.	Efeito da categoria reprodutiva sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozoides.....	350
7.3.2.3.	Análises estatísticas referentes à Tabela 28.....	350
Análise 770.	Comparação da idade das éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, entre jumentos, independentemente do tratamento.....	350
Análise 771.	Comparação do volume de sêmen/dose inseminante de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, entre os jumentos, independentemente do tratamento.....	351
Análise 772.	Comparação do volume de diluidor/dose inseminante de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, entre jumentos, independentemente do tratamento.....	351
Análise 773.	Comparação do número de espermatozoides/dose inseminante de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, entre jumentos, independentemente do tratamento.....	351
Análise 774.	Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e a sua pré-diluição, em minutos, de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, entre jumentos, independentemente do tratamento.....	352
Análise 775.	Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e a sua diluição, em minutos, de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, entre jumentos,	

	independentemente do tratamento.....	352
Análise 776.	Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e o seu resfriamento, em minutos, de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, entre jumentos, independentemente do tratamento.....	353
Análise 777.	Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e a inseminação artificial, em horas, de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, entre jumentos, independentemente do tratamento.....	353
Análise 778.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, entre jumentos, independentemente do tratamento.....	354
Análise 779.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides, entre os jumentos 1 e 2.....	354
Análise 780.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides, entre os jumentos 1 e 3.....	354
Análise 781.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides, entre os jumentos 1 e 4.....	354
Análise 782.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides, entre os jumentos 1 e 5.....	354
Análise 783.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides, entre os jumentos 2 e 3.....	354
Análise 784.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides, entre os jumentos 2 e 4.....	354
Análise 785.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides, entre os jumentos 2 e 5.....	355
Análise 786.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides, entre os jumentos 3 e 4.....	355
Análise 787.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides, entre os jumentos 3 e 5.....	355
Análise 788.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides, entre os jumentos 4 e 5.....	355
Análise 789.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 800 milhões de espermatozóides, entre os jumentos 1 e 2.....	355
Análise 790.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 800 milhões de espermatozóides, entre os jumentos 1 e 3.....	355
Análise 791.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 800 milhões de espermatozóides, entre os jumentos 1 e 4.....	356
Análise 792.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 800 milhões de espermatozóides, entre os jumentos 1 e 5.....	356
Análise 793.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 800 milhões de espermatozóides, entre os jumentos 2 e 3.....	356
Análise 794.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 800 milhões de espermatozóides, entre os jumentos 2 e 4.....	356
Análise 795.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 800 milhões de espermatozóides, entre os jumentos 2 e 5.....	356
Análise 796.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 800 milhões de espermatozóides, entre os jumentos 3 e 4.....	356
Análise 797.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 800 milhões de espermatozóides, entre os jumentos 3 e 5.....	357
Análise 798.	Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 800 milhões de espermatozóides, entre os jumentos 4 e 5.....	357
Análise 799.	Comparação da taxa de gestação/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, entre jumentos, independentemente do tratamento.....	357

RESUMO

O presente estudo foi conduzido no município de Lagoa Dourada, Minas Gerais, entre os meses de Setembro de 2010 e Fevereiro de 2011. Objetivou-se com esse trabalho: a) caracterizar os jatos que compõem a fração rica do ejaculado de jumentos (Experimento I - EI); b) avaliar o efeito de dois diferentes diluidores (Leite em Pó Desnatado-Glicose - LPDG ou Lactose – Gema de Ovo - LGO, Experimento II - EII) e de duas concentrações espermáticas da dose inseminante (400 ou 800×10^6 espermatozóides - Experimento III - EIII) na preservação das características físicas do sêmen e na taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen fracionado e resfriado a 5°C ; c) avaliar a viabilidade da utilização da coleta fracionada no protocolo de processamento do sêmen asinino e d) avaliar a resposta de diferentes reprodutores asininos frente ao resfriamento. Para tal, foram utilizados cinco jumentos da raça Pêga como doadores de sêmen. No EI, os três jatos que compõem a fração rica do ejaculado foram coletados separadamente, sendo avaliados quanto às características físicas do sêmen, quando comparou-se a influência de jumentos e dos jatos sobre estas variáveis. O sêmen oriundo da fração rica do ejaculado foi diluído em dois diluidores (EII) ou em um mesmo diluidor, porém com duas concentrações espermáticas por dose inseminante de 22 mL (EIII), resfriado a 5°C e armazenado por até 48 horas em contêiner proposto por Palhares (1997). A motilidade e o vigor espermáticos foram avaliados, no sêmen a fresco, após a pré-diluição, pré-inseminação bem como às 24 e 48 horas de estocagem. Quando da avaliação de sua fertilidade, utilizaram-se 44 éguas (EII), e 59 éguas (EIII), sendo as mesmas inseminadas com o sêmen armazenado por um período entre 12 e 24 horas. As éguas foram inseminadas às segundas, quartas e sextas-feiras, após a detecção de um folículo de diâmetro igual ou superior a 30mm em um dos ovários, até a ovulação. O diagnóstico de gestação foi realizado a partir do 12º dia pós-ovulação, utilizando-se a ultrassonografia transretal. No EI, observou-se que o volume do jato diferiu ($p < 0,05$) entre os jumentos, embora fosse similar ($p > 0,05$) entre os jatos. A motilidade espermática não diferiu ($p > 0,05$) entre jatos nem entre jumentos. O vigor espermático foi similar ($p > 0,05$) entre os jatos de um mesmo jumento, sendo que apenas o vigor do jato 1 diferiu ($p < 0,05$) entre os jumentos. Independentemente do jumento, a fração rica do ejaculado foi composta por três jatos de concentração espermática decrescente ($p < 0,05$) com $955,56 \pm 64,15$; $725,56 \pm 64,15$ e $280,56 \pm 64,15 \times 10^6$ espermatozóides/ mL de sêmen. No EII o sêmen diluído em LPDG apresentou uma motilidade espermática superior à do LGO, já a partir do tempo Pré-IA, quando dois dos jumentos avaliados mostraram resultados superiores ($p < 0,05$). Às 48 horas de armazenamento, todos os jumentos apresentaram valores de motilidade entre 45 e 53%, quando o sêmen foi diluído em LPDG, enquanto apenas um jumento apresentou motilidade superior à 30% no tratamento utilizando LGO. A taxa de gestação/ciclo para as éguas inseminadas, com o sêmen diluído em LPDG superou ($p < 0,05$) a obtida quando da utilização do diluidor LGO (56,52% vs 4,76%, respectivamente). No EIII, a motilidade e o vigor espermáticos não diferiram ($p < 0,05$) entre as doses inseminantes contendo 400 ou 800×10^6 espermatozóides, para o sêmen diluído em LPDG, durante o período de armazenamento. Entretanto, observou-se influência ($p < 0,05$) dos jumentos sobre estas variáveis. Independentemente da concentração espermática/dose inseminante adotada, durante a estocagem do sêmen, obteve-se uma motilidade espermática superior a 40% e vigor próximo a 3, até as 48 horas de armazenamento a 5°C , excetuando-se o jumento 1, que apresentou vigor inferior a 3. A taxa de gestação/ciclo não diferiu ($p > 0,05$) entre as éguas inseminadas com 400 ou 800×10^6 espermatozóides/dose, sendo de 41,46% e 47,37%, respectivamente. Os jumentos diferiram ($p < 0,05$) entre si, quanto às características seminais, embora não tenham influenciado ($p > 0,05$) a fertilidade das éguas inseminadas.

Palavras-chave: jumento, coleta fracionada, sêmen resfriado, fertilidade.

ABSTRACT

The present study was conducted from September 2010 to February 2011, in Lagoa Dourada, Minas Gerais, in the southeast region of Brazil. The objectives of this study were to evaluate: a) the jets of the sperm rich fraction ejaculated by jackasses (Experiment I – EI); b) two diluters: skim milk-glucose - SMG or egg yolk-lactose – EYL (Experiment II – EII) and two different sperm concentrations (400 or 800 x 10⁶/AI dose; Experiment III – EIII) on semen preservation and on mares' conception rate inseminated with fractionated jackass semen cooled at 5°C; c) the viability of fractional collection of semen carried out by the split-ejaculate method and d) the semen quality and fertility of 5 different Pêga jackasses. In EI the three first jets of the sperm-rich fraction were evaluated to compare different characteristics among jets and jackasses. The sperm rich fraction semen was diluted (EII), cooled to 5°C and stored for up to 48 hours, using 22 mL as a total dose with different concentrations (EIII). The semen were evaluated as fresh, pre-diluted, pre-artificial insemination and at 24 and 48 hours of storage. Fertility were evaluated using 44 (EII) and 59 (EIII) mares inseminated with stored semen for 12 to 24 hours. The inseminations were done on Monday, Wednesday and Friday, since the mares had one follicle of 30 mm of diameter until ovulation. The pregnancy was detected using rectal ultra-sonography at least 12 days from ovulation. In EI the jets volume were different ($p < 0.05$) between jackasses but similar ($p > 0.05$) between jets. Sperm motility was similar ($p > 0.05$) between jets and jackasses. Sperm vigor didn't differ ($p > 0.05$) between jets of the same animal but the first jet was different ($p < 0.05$) between jackasses. The sperm-rich fraction was composed by three jets with decreasing ($p < 0.05$) concentrations 955.56±64.15, 725.56±64.15 and 280.56±64.15 x 10⁶ sperm/mL. In EII, the semen extended in SMG showed the higher sperm motility than the semen extended in EYL, from the pre-insemination time, when two of the donkeys presented higher results ($p < 0.05$). At 48 hours of storage, the doses of all donkeys, extended in SMG, presented motility values between 45% to 53%, while only one donkey presented motility higher than 30% when EYL was used. The conception/cycle rate using SMG doses was higher (56.52%; $p < 0.05$) than the one got from the use of EYL (4.76%). In EIII semen motility and vigor were similar ($p > 0.05$) between different concentrations, using SMG extender, but different ($p < 0.05$) between jackasses. Stored sperm cells for until 48 hours at 5°C had motility higher than 40% and vigor approximately 3, except for one jackass that had vigor less than 3. The conception/cycle rates were 41.46% and 47.37% ($p > 0.05$) using 400 or 800 x 10⁶/sperm AI dose, respectively. The donkeys were different ($p < 0.05$) from each other when the sperm characteristics were compared, although it didn't influence ($p > 0.05$) the conception rate of inseminated mares.

Keywords: jackass, fractionated semen, cooled semen, fertility.

1.INTRODUÇÃO

A população mundial de equídeos têm se mantido estável nas últimas décadas e tem sido estimada atualmente em 113.473.522 de cabeças, sendo composta por 58.770.171 equinos, 43.496.677 asininos e 11.206.674 muares (FAO, 2008). No Brasil, estima-se que a população de equídeos tenha 7.986.023 cabeças, sendo 5.541.702 equinos, 1.130.795 asininos e 1.313.526 muares (IBGE, 2008). Em 2007, o efetivo de asininos era de 1.163 milhões de cabeças, 2,0% menor que o de 2006, com o número de muares (mulas e burros) sendo estimado em 1.343 milhões de cabeças, com uma queda de 3,1% em relação ao número de 2006 (IBGE, 2007).

Apesar de substanciais reduções nos efetivos dos equídeos motivadas pela moto-mecanização dos transportes, a produção de muares, constitui, ainda, uma atividade economicamente importante no Brasil. Os muares são animais híbridos, oriundos do cruzamento de jumentos (*Equus asinus*) e fêmeas da espécie eqüina (*Equus caballus*), destacando-se, no país, a criação de jumentos da raça Pêga e seus híbridos (mulas e burros), oriundos do seu cruzamento com éguas de diversas raças nacionais (Campolina, Mangalarga, Mangalarga Marchador, etc.). Investimentos em genética têm sido responsáveis por uma grande valorização da raça. O mercado dos muares, por sua vez, abrange vários setores, salientando-se o seu uso como animais de tração, bem como os envolvidos no manejo de rebanhos de corte. Destaca-se ainda a sua utilização em concursos de marcha e na realização de cavalgadas. No topo da pirâmide encontra-se um mercado mais restrito, mas de substancial valor agregado, o da seleção genética.

A biotecnologia da reprodução se coloca como uma importante ferramenta a serviço da equideocultura mundial, como instrumento direto no melhoramento genético. A inseminação artificial representa a biotecnologia de maior impacto na produção equídea, possibilitando o maior aproveitamento de animais de grande mérito

genético, além de ser uma ferramenta fundamental na prevenção de enfermidades oriundas do trânsito e contato entre animais (Canisso, 2008). Nesse contexto, o armazenamento e o transporte do sêmen, seja pela refrigeração ou congelamento, permitem direcionar melhor os acasalamentos utilizando-se garanhões geneticamente superiores (Nunes, 2006).

A evolução das técnicas de congelamento de sêmen foi intensa na espécie bovina. Entretanto, apesar dos diversos estudos realizados, a fertilidade do sêmen criopreservado de garanhões ainda está bem distante daquela obtida em bovinos. Desta forma, a fertilidade do sêmen congelado ainda é baixa, impedindo a sua utilização em larga escala (Amann e Pickett, 1987; Henry et al., 2002). Diante desta realidade, observa-se ainda nos equídeos a utilização massal da inseminação com sêmen a fresco diluído ou do resfriado e/ou transportado.

A diluição do sêmen e seu armazenamento sob refrigeração oferece inúmeras vantagens como o prolongamento da sobrevivência espermática, proteção dos espermatozoides de condições adversas, maximização do número de fêmeas a serem inseminadas, redução da possibilidade de transmissão de doenças durante o transporte de machos e fêmeas, incremento do melhoramento genético e redução da consanguinidade uma vez que permite a utilização de um reprodutor de valor genético superior localizado à grande distância de uma propriedade e, finalmente, a eliminação dos custos e riscos associados ao transporte das fêmeas, principalmente das amamentando.

O processo de resfriamento do sêmen requer tecnologia e equipamentos mínimos que permitam a coleta, avaliação, diluição e preparação das doses inseminantes. Entretanto, a manipulação do sêmen destinado à inseminação artificial exige profissionais com experiência e conhecimento para fazê-lo de forma apropriada. Além disso, nem todos os reprodutores possuem sêmen capaz de suportar as condições de

resfriamento. O manejo reprodutivo adequado da fêmea também representa um ponto crucial na utilização desta técnica, podendo um controle reprodutivo deficiente (falha na detecção dosaios, desconhecimento do melhor momento e frequência ideal das inseminações) acarretar um substancial decréscimo da fertilidade.

Como vantagens destaca-se a possibilidade de se poder coletar e armazenar o sêmen a curto e a médio prazos, transportá-lo e utilizá-lo, o que faz do resfriamento uma técnica amplamente utilizada no mundo, em grande parte das espécies de produção, principalmente na suína e equina (Pickett, 1995; Allen, 2005; Martínez et al., 2005).

Atualmente, publicações envolvendo a utilização do sêmen resfriado asinino para a inseminação de éguas concentraram-se no continente sul-americano, onde se encontra, ainda, grande população muar (Ferreira, 1993; Boeta e Quintero, 2000; Rossi, 2008). Na Europa, a aplicação de técnicas modernas de reprodução assistida (inseminação artificial, congelamento de gametas, transferência de embriões, etc) têm sido utilizada como ferramentas auxiliares visando a conservação de algumas raças asininas que se encontram em perigo de extinção como a raça Zamorano-Leonesa e Catalã na Espanha, e a Baudet Du Poitou na França (Trimeche, 1996; Trimeche et al., 1998; Serres et al., 2002; Miró et al., 2009; Vidament et al., 2009).

Diversos são os fatores capazes de influenciar a longevidade e viabilidade espermática do sêmen submetido ao resfriamento, valendo salientar o diluidor utilizado, os protocolos de refrigeração, os métodos de transporte, fatores físicos, morfológicos, bioquímicos e metabólicos inerentes aos espermatozoides bem como características inerentes às membranas.

Os diluidores mais utilizados para a diluição e resfriamento do sêmen de equinos e asininos possuem em sua constituição macromoléculas oriundas da gema de ovo ou do leite, capazes

de fornecer proteção aos espermatozoides contra os danos causados pela queda da temperatura. Assim, Ferreira (1993) e Mello et al. (2000) relataram superioridade dos diluidores contendo gema de ovo em relação aos a base de leite, quando da preservação das características físicas do sêmen de jumentos.

Apesar da participação dos constituintes do plasma seminal em diversos eventos fisiológicos, a sua presença, durante o processo de resfriamento e criopreservação, parece deletéria ao sêmen bovino (Martinus et al., 1991; Bergeron et al., 2004) e equino (Jasko et al., 1992a; Brinsko et al., 2000; Way et al., 2000; Moore et al., 2005a). No que diz respeito ao sêmen asinino, os efeitos da remoção do plasma seminal antes do resfriamento do sêmen permanecem controversos, tendo sido observados efeitos benéficos da remoção do plasma seminal em alguns experimentos (Dalmau, 2003), enquanto em outros não observou-se diferenças na qualidade do sêmen armazenado na presença ou ausência do plasma seminal (Ferreira et al., 1991; Rota et al., 2008). Em equinos, Jasko et al. (1992a) demonstraram vantagens da remoção do plasma seminal na manutenção da viabilidade espermática apenas quando se utilizou diluidores a base de gema de ovo. A coleta fracionada surge como alternativa para remoção do plasma seminal, eliminando os efeitos deletérios da centrifugação sobre a motilidade espermática. Entretanto, não existem relatos na literatura envolvendo a utilização do sêmen asinino coletado de forma fracionada para a inseminação de éguas ou jumentas.

A falta de padronização dos protocolos de processamento e resfriamento do sêmen equídeo tem sido acompanhada pela existência de diversas metodologias, o que torna a sua comparação bem difícil, notadamente no que se refere aos resultados de fertilidade. Assim, muitos estudos não incluem detalhes como a composição do meio diluidor, a curva de resfriamento utilizada, a duração e a temperatura final de armazenamento do sêmen, o volume e a

concentração da dose inseminante, bem como o número de ciclos por prenhez, apenas a fertilidade total obtida. Há que se ressaltar a escassez de publicações envolvendo a mensuração da capacidade fecundante do sêmen asinino, determinada pela inseminação de éguas e avaliação das taxas de concepção ou do percentual de recuperação de embriões. A concentração ideal da dose inseminante do sêmen resfriado não foi objeto de nenhum estudo até o momento, estando a literatura disponível a este respeito restrita à tese de Leite (1994) que, no entanto, utilizou apenas o sêmen fresco diluído de asininos.

Considerando-se a importância do uso da inseminação artificial e do resfriamento e congelamento do sêmen no avanço da equideocultura, é fundamental que novos trabalhos sejam desenvolvidos neste sentido. Diante do exposto, objetivou-se com esse trabalho:

- a) Caracterizar, individualmente, os jatos que compõem a fração rica do ejaculado de jumentos da raça Pêga;
- b) avaliar dois diferentes diluidores, a base de leite em pó desnatado-glicose ou lactose-gema de ovo, na preservação das características físicas do sêmen e taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen asinino coletado de forma fracionada e resfriado a 5°C;
- c) avaliar a utilização de duas concentrações espermáticas da dose inseminante, 400×10^6 ou 800×10^6 , sobre a manutenção das características físicas do sêmen e taxa de gestação das éguas inseminadas com sêmen asinino coletado de forma fracionada e resfriado a 5°C;
- d) verificar a viabilidade da utilização da coleta fracionada no protocolo de processamento do sêmen asinino;
- e) observar a resposta de diferentes reprodutores asininos frente ao resfriamento, com base nas características físicas do sêmen e na taxa de gestação das éguas inseminadas;

f) verificar a viabilidade da incorporação de um manejo reprodutivo, fixando-se as inseminações em três dias da semana.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Fatores a serem considerados no processo de resfriamento, transporte e utilização do sêmen diluído de asininos

As biotecnologias com foco na preservação espermática devem proporcionar a conservação de alguns atributos essenciais destas células para que possam desempenhar suas funções, valendo enfatizar: a) metabolismo para produção de energia, b) motilidade progressiva; c) presença e funcionalidade de enzimas acrossomais necessárias para a transposição das células do cumulus; d) retenção de proteínas capazes de garantir a sobrevivência do espermatozoide no sistema genital feminino e e) uma adequada distribuição de lipídios e proteínas na membrana plasmática que possibilitem a ocorrência da reação acrossômica, ligação e fusão com a membrana do oócito (Amann e Pickett, 1987).

Poucos trabalhos referentes à utilização do sêmen asinino, seja para a inseminação de éguas ou de jumentas, têm sido encontrados na literatura. A maioria dos trabalhos envolve a avaliação de características espermáticas *in vitro* como ponto final, utilizando-as para prever a fertilidade. Além disso, pelo fato dos jumentos pertencerem ao mesmo grupo taxonômico dos cavalos, muitas tecnologias têm sido adaptadas dos equinos para os asininos. No entanto, apesar do sêmen de jumentos apresentar similaridades com o sêmen do garanhão, há peculiaridades de cada espécie em vários aspectos (Nishikawa, 1959).

Um dos maiores responsáveis pelo crescente uso do sêmen resfriado é a alta proporção de reprodutores com baixa tolerância à criopreservação (Vidament et al., 1997). Além disso, o domínio do resfriamento do sêmen têm sido de grande interesse uma vez

que mantêm a fertilidade do sêmen por períodos de um a três dias, permitindo seu transporte. Em muitas raças asininas, principalmente em populações restritas, o uso do sêmen resfriado pode ser o método preferencial visando melhorar a eficiência reprodutiva e evitar a consanguinidade.

O sucesso do uso do sêmen resfriado/armazenado depende de uma série de fatores tais como das características individuais e de fertilidade do reprodutor, composição do diluidor, temperatura de estocagem, número de espermatozóides/ dose inseminante, número de inseminações, dentre outros (Brinsko et al, 2000; Batellier et al., 2001).

2.1.1. Fatores inerentes ao reprodutor e ao sêmen

2.1.1.1. Individualidade do reprodutor

A fertilidade de um reprodutor pode ser influenciada pelo seu uso, comportamento sexual, momento e método de cobrição e, também pela fertilidade das éguas, dentre outros fatores. Submetidos a um manejo adequado, machos subfêrteis podem atingir taxa de nascimento razoável (Hurtgen, 1992). No entanto, poucos são os reprodutores que cobrem um número suficiente de éguas para se estabelecer, verdadeiramente, o seu potencial de fertilidade (Pickett e Voss, 1973).

Alguns autores consideram que a espécie equina possui índices de fertilidade mais baixos quando comparada às demais espécies domésticas (Sullivan et al., 1975). Parte dessas observações relaciona-se ao fato de que nesta espécie, não há seleção para fertilidade (Merkt, 1986). Além disso, há uma tendência de se atribuir à fêmea os problemas de infertilidade, comprometendo uma avaliação mais criteriosa do garanhão (Pimentel, 1989; Hammes et al., 1996).

Independentemente da forma de utilização do sêmen (monta natural, inseminação artificial com sêmen fresco, resfriado ou congelado), a

literatura é unânime no que diz respeito às variações individuais. Mann et al. (1963) e Pickett et al. (1970) descreveram variações significativas nos parâmetros físicos do sêmen entre indivíduos e também entre ejaculados de um mesmo indivíduo.

Dentre os fatores que podem alterar os índices reprodutivos, a qualidade seminal assume um efeito considerável. No entanto, essa associação tem-se mostrado questionável sob determinados aspectos. Neste sentido, Haag (1959), Nishikawa (1959) e Bielanski (1975) foram os pioneiros em estabelecer uma variação da fertilidade a partir de diferentes padrões seminais. Enquanto Haag (1959) verificou melhores índices de concepção associados a garanhões que apresentavam mais de 50% de motilidade e percentuais de espermatozóides anormais inferiores a 40%, Bielanski (1975) observou que garanhões com altos índices de anormalidades morfológicas poderiam apresentar excelente fertilidade. Mais tarde, Kenney et al. (1983) verificaram que a concentração espermática associada ao percentual de espermatozóides morfolologicamente normais e a motilidade eram as características seminais que melhor explicavam variações nas taxas de concepção obtidas ao final de uma estação de monta. Tais características serviram de base para determinar um padrão qualitativo que pudesse auxiliar na interpretação dos espermogramas de garanhões. Nesta mesma linha, outros autores têm mostrado que, das variáveis seminais, a motilidade e a morfologia espermática são as mais relevantes (Dowset et al., 1984; Jasko et al., 1990).

Pimentel (1989) avaliou a fertilidade de quatro garanhões com diferentes porcentagens de espermatozóides normais (40%, 61%, 68% e 82%) e obteve índices de fertilidade de 67%, 80%, 83% e 87%, respectivamente. Além disso, observou alta correlação entre esse parâmetro e a prenhez ($r=0,98$, $p<0,01$). Palhares (1989) trabalhando com éguas Mangalarga Marchador e com 26 garanhões, obteve uma taxa de prenhez/ciclo média de 51,28%, que variou de 23,53% a 100% entre os garanhões.

Repetindo o experimento realizado por Pimentel (1989), porém utilizando 11 garanhões, Gastal et al. (1991) observaram diferenças quanto à porcentagem de espermatozoides normais entre os garanhões, que variou de 31,3% a 63,5%. Entretanto, quando submetidos ao teste de fertilidade, as taxas de prenhez por ciclo (45,4% a 100%), as de prenhez total (75% a 100%) e o número de montas por prenhez (1,2 a 4,4) não diferiram entre os garanhões. Talvez o número insuficiente de éguas cobertas por cada garanhão tenha sido responsável pela baixa correlação encontrada entre a porcentagem de espermatozoides normais e a fertilidade, neste estudo.

Embora os aspectos morfológicos do sêmen tenham mostrado associações com a fertilidade (Pimentel, 1989; Jasko et al., 1990), as dificuldades em se estabelecer um modelo prático para utilização na rotina clínica dos haras ainda são marcantes. As anormalidades morfológicas variam entre indivíduos, durante a sua vida reprodutiva, podendo ou não estar associadas a outras características seminais (Hellander et al., 1991; Hammes et al., 1996), sem que haja um comprometimento efetivo da fertilidade. Pressupõe-se, com base nesses estudos, que as características seminais assumem um papel decisivo na determinação da fertilidade do garanhão, particularmente na sua eficiência reprodutiva. Porém, muitos aspectos ainda são contraditórios (Voss et al., 1981; Palmer e Fauquenot, 1984; Rousset et al., 1987; Amann, 1989).

O tempo de sobrevivência espermática em diferentes condições de estocagem também varia entre os indivíduos (Demick et al., 1976; Malmgren et al., 1992). Segundo Tischner (1979) a congelabilidade do sêmen parece ser específica para garanhões e independente da estação do ano. Assim, ao estudar a susceptibilidade de 36 garanhões ao congelamento/descongelamento, classificou os animais de acordo com as características seminais em: a) bom, espermatozoides com índice satisfatório; b) razoável/suficiente e c) pobre/insuficiente, encontrando 20%, 60% e

20% dos garanhões em cada grupo, respectivamente. Além disso, o autor não observou nenhuma interdependência entre a motilidade espermática antes e após o congelamento.

Para asininos, Ferreira (1993) e Santos (1994) observaram diferenças ($p < 0,05$) entre jumentos e entre ejaculados de um mesmo animal para as variáveis seminais motilidade total, motilidade progressiva e vigor durante o armazenamento do sêmen resfriado a 5°C. Também trabalhando com a espécie asinina, porém com sêmen congelado, Miró et al. (2003), citado por Castejón (2005), observaram viabilidade espermática pós-descongelamento variando entre 23% e 60% de acordo com o indivíduo. Desta forma, a habilidade do espermatozoide em resistir ao processamento de conservação é inerente a cada garanhão, podendo influenciar a motilidade, vigor, morfologia e capacidade fecundante do sêmen pós-processamento.

Ao avaliarem o comportamento do sêmen de jumentos da raça Amiata submetidos ao resfriamento, Rota et al. (2008) observaram efeito do reprodutor sobre as características espermáticas (motilidades espermáticas total e progressiva), logo após a diluição do sêmen, bem como variações entre ejaculados de um mesmo reprodutor. Esta variação individual se manteve até as 72 horas de armazenamento à 5°C, sendo identificadas diferenças entre os indivíduos quanto ao percentual de redução da motilidade. Nos estudos de Contri et al. (2010) o jumento também foi fonte de variação no que se refere aos parâmetros de motilidade e viabilidade espermáticas, avaliados durante o resfriamento do sêmen.

Também Rossi (2008) observou grande variação individual entre jumentos da raça Pêga quanto às diferentes características seminais avaliadas, tais como concentração espermática, concentração de espermatozoides móveis, número total de espermatozoides por ejaculado e número total de espermatozoides móveis por ejaculado. Quando as coletas foram destinadas ao resfriamento, o número de montas/ejaculado,

volume de sêmen, motilidade espermática no sêmen *in natura*, concentração espermática, concentração de espermatozóides móveis, número total de espermatozóides por ejaculado, número total de espermatozóides móveis e motilidade após diluição e resfriamento, diferiram para os cinco jumentos utilizados. Além disso, a fertilidade diferiu entre os jumentos quando da utilização do sêmen fresco diluído, com taxas de concepção / ciclo variando de 36% a 71%; sendo esta diferença mantida quando as éguas foram inseminadas com sêmen diluído e resfriado a 5°C por até 12 horas, quando as taxas de concepção variaram de 36% a 74%.

Vários estudos têm sido conduzidos na tentativa de se explicar as variações individuais do sêmen do garanhão. Amann et al. (1987) observaram maiores variações associadas com ejaculados de um mesmo garanhão do que entre garanhões, quanto à concentração de proteínas, sódio, cálcio, fósforo e cloro no plasma seminal de sete garanhões com diferentes motilidades pós-descongelamento. Também foram identificadas diferenças entre garanhões quanto à habilidade de seus espermatozóides formar reservatórios na tuba uterina de éguas, com garanhões subfêrteis mostrando menos espermatozóides móveis na tuba de éguas após inseminação quando comparados com garanhões férteis (Scott et al., 1995).

Baseando-se nos achados de Aurich et al. (1996), a composição do plasma seminal parece ser fator determinante para o comportamento do sêmen frente à criopreservação. A adição de plasma seminal de garanhões apresentando boa congelabilidade ao sêmen de garanhões com baixa motilidade espermática após congelamento/descongelamento aumentou significativamente a motilidade progressiva do segundo grupo. Verificou-se, ainda, melhor integridade da membrana espermática. Além disso, a adição de plasma seminal de garanhões de baixa congelabilidade reduziu a motilidade progressiva dos garanhões com boa motilidade pós-congelamento/descongelamento. Os componentes do plasma

seminal responsáveis pela boa congelabilidade do sêmen permanecem desconhecidos. Entretanto, diferenças individuais no conteúdo de substâncias estabilizadoras do plasma seminal podem explicar os diferentes comportamentos das células espermáticas dos garanhões quando submetidas ao congelamento (Aurich et al., 1996).

2.1.1.2. Características do sêmen de asininos

Em virtude dos jumentos pertencerem ao mesmo grupo taxonômico dos cavalos, muitas tecnologias têm sido adaptadas dos equinos para os asininos. No entanto, apesar do sêmen do jumento apresentar similaridades com o sêmen do garanhão, há peculiaridades de cada espécie em vários aspectos (Nishikawa, 1959).

A aparência do sêmen asinino é descrita como branca e uniforme por alguns autores (Ferreira, 1993; Morais et al., 1994a; Gastal et al., 1997). Entretanto, Nishikawa (1959) observou que o sêmen de garanhões japoneses apresentava coloração cinza-amarelado, com consistência homogênea, variando de leitoso a mais ou menos viscoso.

Morais et al. (1994a) avaliaram as características físicas e morfológicas do ejaculado de seis reprodutores da raça Pêga. As características avaliadas e os valores médios encontrados foram: volume total ($59,88 \pm 15,54$ mL), volume de gel ($8,19 \pm 4,07$ mL), motilidade espermática total ($81,93 \pm 6,27\%$), motilidade progressiva ($72,86 \pm 7,20\%$), vigor espermático ($4,63 \pm 0,49$), concentração espermática ($444,11 \pm 182,72 \times 10^6$), total de espermatozóides por ejaculado ($24,88 \pm 9,59 \times 10^9$), total de defeitos espermáticos ($15,60 \pm 3,62\%$), defeitos maiores ($8,55 \pm 2,14\%$) e defeitos menores ($7,04 \pm 2,56\%$). Também Canisso et al. (2010) avaliaram as características físicas de reprodutores da raça Pêga, encontrando os seguintes valores: volume de sêmen livre de gel ($47,3 \pm 28,7$ mL); volume de gel ($71,8 \pm 54,8$ mL); motilidade total ($84,3 \pm 6,0\%$);

motilidade progressiva ($74,3 \pm 7,5\%$); vigor espermático ($3,9 \pm 0,5$, escala de 0 a 5); concentração espermática (253×10^6 células/mL) e número total de espermatozoides ($10,3 \times 10^9$). Nota-se que o volume de gel observado por Canisso et al. (2010) foi muito superior ao descrito anteriormente por Morais et al. (1994a).

Segundo alguns autores, a presença de gel no ejaculado do jumento é menos frequente que no cavalo e, quando presente, encontra-se em menor quantidade (Nishikawa, 1959; Kreuchauf, 1984; Henry et al., 1987; Gastal et al., 1997; Mello et al., 2000). Grande variação individual foi observada para esta característica que pode ser devida a época do ano (Nishikawa, 1959; Beck, 1982), a idade do animal (Lambert e Mckenzie, 1940) ou a frequência de coleta do sêmen (Berliner et al., 1938). Canisso et al. (2010) encontraram correlação positiva entre volume de gel e a duração da cópula.

Ao serem comparadas com dados relativos aos equinos, observa-se a existência de diferenças em alguns parâmetros seminais. O volume total do ejaculado de jumentos é inferior, porém com menor incidência e volume de gel, portanto, de forma que a fração rica em espermatozoides apresenta praticamente o mesmo volume. A concentração espermática por mL e o número total de espermatozoides por ejaculado, apesar de apresentar grande variação, regra geral, mostra-se mais alta que a observada para equinos: $342,6 \pm 195,8 \times 10^6$ spz/mL (Gastal, 1991), 406×10^6 spz/mL (Gokcen et al., 1993); $444,11 \pm 182,72 \times 10^6$ spz/mL (Morais et al., 1994a), entre 252 e 610×10^6 spz/mL (Santos, 1994), entre 34,5 e $101,9 \times 10^6$ spz/mL (Henry et al., 1999), 40 a 614×10^6 spz/mL (Crespo et al., 2003), de 140 a 545×10^6 spz/mL (Dalmau, 2003); $271,12$ a $290,63 \times 10^6$ spz/mL (Miró et al., 2005) e $198,71 \pm 90,93$ a $325,58 \pm 113,29$ (Rossi, 2008).

Além disso, pela avaliação da motilidade e vigor espermáticos, constata-se que os jumentos apresentam, de modo geral,

ejaculados de melhor qualidade. O percentual de espermatozoides móveis no ejaculado descrito pela literatura para diferentes raças asininas está apresentado a seguir: 69,58% a 77,50% (Ferreira, 1993); 81,93% (Morais et al., 1994b); 85% (Crespo et al., 2003); 81,33% a 83,64% (Rossi, 2008); 74,3% (Canisso et al., 2010). Em programas de inseminação artificial estas características indicam a possibilidade de se produzir maior número de doses inseminantes por ejaculado

O pH do sêmen asinino situa-se entre 6,8 e 8,0 (Morais et al., 1994b; Gastal et al., 1997; Batista, 2003; Miró et al., 2005). Nos equinos o pH normal encontra-se entre 7,2 e 7,6 (Kenney et al., 1983). Nesta espécie, o pH do sêmen esteve inversamente relacionado com a concentração espermática, de forma que ejaculados com menor concentração apresentaram maior pH (Pickett, 1993a).

No que diz respeito ao padrão de ejaculação, as duas espécies, equina e asinina, apresentam um padrão similar, sendo o ejaculado composto por três frações: uma pré-espermática, uma rica em espermatozoides e uma fração pós-espermática, de origem bulbo-uretral, das ampolas dos ductos deferentes e das glândulas vesiculares, respectivamente (Mann et al., 1963; Magistrini et al., 2000).

A caracterização das frações do ejaculado asinino foi realizada por Mann et al. (1963). A fração pré-espermática consistiu de um líquido transparente, com volume médio de 2,8mL, apresentando baixas concentrações de espermatozoides, ergotionina e ácido cítrico, acompanhadas por concentrações consideráveis de ácido láctico (12mg/dl) e altas concentrações de cloreto de sódio (850mg NaCl/dl). A fração rica em espermatozoides apresentou três porções, com as mesmas características: aspecto leitoso, alta concentração espermática e de ergotionina, sendo as concentrações de ácido láctico similares à da fração pré-espermática, porém com menores valores para cloreto de sódio (744mg NaCl/dl). A baixa concentração de ácido cítrico, oriundo das glândulas

vesiculares, sugere a ausência de participação desta glândula na composição da fração rica. Finalmente, a fração pós-espermática apresentou baixa concentração espermática, altas concentrações dos ácidos láctico (89mg/mL) e cítrico (21,5mg/dl) e aparência “gelatinosa” transparente, característicos da secreção vesicular. As três porções que compunham a fração rica apresentaram volume de 9, 17 e 9 mL, respectivamente, com concentrações espermáticas variando de 20 a mais de 40×10^9 espermatozoides/dl (Mann et al., 1963).

Em garanhões, Kosiniak (1975) descreveu a fração rica em espermatozoides sendo composta por três a seis jatos, de concentração decrescente, podendo os três primeiros conter 76% dos espermatozoides ejaculados. No experimento conduzido por Mello (1998), denominou-se fração rica do ejaculado, os dois primeiros jatos do mesmo. Assim, para quatro jumentos da raça Pêga e um da raça Nordestina, observou-se que o volume dessa fração variou de $9,72 \pm 3,43$ a $47,00 \pm 2,91$ mL, a concentração espermática de $246,25 \pm 103,07$ a $930,05 \pm 260,53 \times 10^6$ espermatozoides/mL, e o número total de espermatozoides de $7,69$ a $14,35 \times 10^9$. Além disso, observou-se, neste experimento, que os dois primeiros jatos do ejaculado de jumentos possuíam, em média, 57,6% do volume total de sêmen e continham quase 94% do total de espermatozoides do ejaculado, porcentagem superior à descrita por Kosiniak (1975) para o ejaculado de garanhões.

Ao utilizarem uma vagina artificial aberta para a coleta do sêmen de jumentos Poitou, Trimeche (1996) citado por Castejón (2005), observou maior concentração espermática na fração rica ($408,5 \pm 110,5 \times 10^6$ espermatozoides/mL), em relação ao restante do ejaculado ($120,5 \pm 52,6 \times 10^6$ espermatozoides/mL), sendo que o volume desta fração variou de 6 a 23 mL.

Ao compararem a morfologia dos espermatozoides equinos e asininos, Nishikawa (1959) e Mann (1964) descreveram que a cabeça do espermatozoide

asinino era maior e mais arredondada que a do equino. El Wishy (1975) descreveu uma maior incidência de inserção abaxial da peça intermediária nos espermatozoides de jumentos em relação ao de cavalos, tendo esta avaliação utilizado espermatozoides armazenados no epidídimo. Já em 1990, Launay, citado por Dalmau (2003), comparou a ultraestrutura dos espermatozoides equinos e asininos da raça Poitou e não observou diferenças entre as duas espécies.

Para o jumento, a porcentagem de formas anormais é relativamente baixa, estando por volta de 16% na maioria dos relatos (Kreuchauf, 1984; Henry et al., 1987, Costa et al., 1991; Morais et al., 1994b; Gastal et al., 1997; Batista, 2003).

O jumento é sexualmente ativo e produz espermatozoides durante todo o ano. Kreuchauf (1984) e Henry et al. (1999) não encontraram diferenças em relação à libido, à produção espermática, e às características de motilidade e vigor espermáticos ao longo do ano. Também no experimento conduzido por Gastal et al. (1991), o efeito sazonal sobre as características seminais não ficou caracterizado, verificando-se apenas uma variação ($p < 0,05$), entre meses isolados, na motilidade espermática progressiva, na porcentagem de espermatozoides anormais e no pH seminal. Porém, em um trabalho posterior do mesmo grupo, observou-se diferenças no pH seminal, havendo uma queda durante o verão (Gastal et al., 1997).

Quando submetidos a diferentes desafios térmicos e osmóticos, os espermatozoides de asininos demonstraram menor resistência em baixas (-16°C) e altas (57°C) temperaturas, assim como foram mais sensíveis às mudanças osmóticas, em relação aos de garanhões. Demonstrou-se, ainda, que a queda brusca de temperatura causou danos mais severos ao sêmen de asininos do que ao de equinos (Nishikawa, 1959).

Posteriormente, Mann et al. (1963) também identificaram diferenças entre jumentos e garanhões quanto à taxa de metabolismo

aeróbico e sobrevivência *in vitro*. Discordando dos achados de Nishikawa (1959), observaram maior resistência dos espermatozoides de jumentos ao resfriamento. Observaram, ainda, que a adição de substratos metabolizáveis ao meio aumentou a captação de oxigênio pelos espermatozoides dos asininos, de forma superior ao que se observou nos espermatozoides de equinos. A respiração da célula espermática equina declinou de forma mais rápida, em relação à dos asininos. Assim, aos oito dias de armazenamento do sêmen, os espermatozoides asininos exibiram maior atividade respiratória que a observada para os espermatozoides do garanhão.

Em 2005, com a utilização de sistemas de análise computadorizada, Miró et al. relataram a existência de subpopulações espermáticas no ejaculado de jumentos da raça Catalã, similarmente ao descrito para outras espécies. Assim, foram identificadas quatro subpopulações que se diferenciaram quanto à seus padrões de motilidade. A estrutura dessas subpopulações variou em função do indivíduo, do ejaculado, da motilidade espermática total e do número de espermatozoides/mL de sêmen.

2.1.1.3. Composição do plasma seminal

O plasma seminal é composto por uma mistura de secreções testiculares, do epidídimo e das glândulas acessórias, cujas funções são fornecer energia e proporcionar um meio adequado para o movimento e sobrevivência dos espermatozoides enquanto migram pelo sistema genital feminino até o local onde acontecerá a fertilização (Mann, 1964).

Aproximadamente 95% do volume total do ejaculado do garanhão é secretado pelas glândulas sexuais, representadas pela vesícula seminal, próstata, glândula bulbouretral e ampolas dos ductos deferentes (Pickett et al., 1983). Em estudo conduzido por Contri et al. (2008), foi realizada a avaliação ultrassonográfica das glândulas sexuais acessórias (vesícula seminal, próstata,

glândula bulbouretral e ampola dos ductos deferentes) em 16 jumentos da raça Martina-Franca nos períodos de repouso sexual, ereção e após a ejaculação. O aumento no tamanho das glândulas após a estimulação sexual, bem como a sua redução após a ejaculação foram significativas ($P \leq 0,01$) em todas as glândulas. Exceção apenas para a vesícula seminal quando apenas a redução após a ejaculação foi significativa ($P \leq 0,01$). O tamanho de todas as glândulas avaliadas não diferiu ($P > 0,05$) entre as mensurações realizadas em repouso sexual e após a ejaculação.

Similarmente ao observado em equinos por Weber et al. (1990), o diâmetro e a aparência ultrassonográfica das glândulas sexuais nos asininos não estiveram associados às características seminais envolvendo o volume total e livre de gel do ejaculado ou a concentração espermática (Contri et al., 2008).

Diferindo do que foi descrito para garanhões, no estudo de Contri et al. (2008) o lúmen das vesículas seminais não foi detectado em nenhuma das avaliações realizadas em jumentos. As dimensões das glândulas sexuais foram maiores quando comparadas às de garanhões (Mari e Belluzzi, 1992). Segundo os autores, este fato pode ser atribuído ao alto volume do ejaculado livre de gel obtido para o sêmen de jumentos ($89,1 \pm 38,5$ mL) comparado ao descrito para garanhões (28 – 65 mL; Squires et al., 1979).

Os espermatozoides dos mamíferos são liberados do testículo ainda incapazes de interagir com o oócito, somente adquirindo capacidade fecundante após sofrer um complexo processo denominado maturação espermática pós-testicular. Esse processo inicia-se durante o trânsito epididimário, sendo seguido por mudanças que ocorrem durante a ejaculação. No sistema genital feminino, os espermatozoides são submetidos a uma segunda sequência de maturação, denominada capacitação, que os permite atingir o local da fertilização e interagir com o oócito de maneira adequada. O plasma

seminal parece exercer importantes funções nestes processos (Töpfer-Petersen et al., 2005).

Uma característica essencial do processo de maturação pós-testicular inclui o remodelamento da superfície dos espermatozoides através de interações específicas com proteínas e glicoproteínas, secretadas ao longo do epidídimo e também presentes no plasma seminal. Proteínas com capacidade ligante aos espermatozoides estão envolvidas no estabelecimento do reservatório espermático (Gwathmey et al., 2003), no controle da capacitação espermática pela atuação conjunta de fatores decapacitantes e capacitantes (Manjunath e Thérien, 2002) e em eventos centrais da fertilização (Töpfer-Petersen et al., 1999ab).

Para manter a integridade da membrana, durante o transporte pelo sistema genital feminino, as proteínas do plasma seminal se aderem à membrana espermática, formando uma camada de glicoproteínas. Os espermatozoides, ao passarem do plasma seminal para os fluidos do sistema genital feminino, sofrem algumas alterações, tais como remoção ou modificação da camada glicoprotéica (Gadella et al., 2001), alteração do fluxo iônico transmembrana, exposição dos sítios de receptores da membrana espermática, remoção dos componentes que cobrem a cauda, evitando que haja restrição da motilidade hiperativa do flagelo. Outras mudanças também ocorrem nas porções caudal e rostral da cabeça do espermatozoide, precedendo a reação acrossômica; e nas peças intermediária e principal, antecedendo a hipermotilidade (Amann e Graham, 1993).

O painel de proteínas identificadas no plasma seminal inclui hormônios, enzimas, inibidores de proteinases e outros componentes, fatores de crescimento protéicos e glico-protéicos, de natureza e função ainda desconhecidas. Sua composição e efeitos na capacidade fertilizante dos espermatozoides parecem variar dependendo da fertilidade individual (Brandon et al., 1999). Entretanto, apenas em casos restritos a ação do plasma seminal sobre

a função espermática foi atribuída à presença de uma ou mais proteínas distintas (Töpfer-Petersen et al., 2005).

O conteúdo de proteínas do plasma seminal do equino, aproximadamente 10mg/mL, é relativamente baixo quando comparado ao de outras espécies mamíferas (20 a 60mg/mL). Além disso, parece variar em função das frações do ejaculado, de forma que Koskinen et al. (2002) registraram maior conteúdo protéico na fração rica em espermatozoides, no ejaculado de equinos. Também variações individuais foram observadas em relação a este conteúdo protéico.

No que diz respeito ao plasma seminal asinino, não há relatos na literatura quanto à sua composição protéica. As distinções já relatadas entre o plasma seminal equino e asinino concentram-se na menor quantidade de magnésio (Morais et al., 1994b) e maior conteúdo de frutose (Trimeche, 1996), triglicérides e proteínas totais (Pal et al., 2009) no plasma seminal de asininos.

As proteínas presentes no plasma seminal equino tendem a formar agregados com massa molecular de aproximadamente 800 kDa, sendo estes compostos principalmente por proteínas de peso molecular entre 11-30 kDa, que correspondem a 70% do total de proteínas seminais (von Fellenberg et al., 1985). Proteínas com peso molecular entre 13 e 122 kDa foram detectadas por Amann et al. (1987). Ap utilizarem eletroforese bidimensional, Brandon et al. (1999) identificaram 14 proteínas principais, estando algumas delas correlacionadas com a fertilidade individual dos garanhões.

Alguns estudos têm descrito proteínas no plasma seminal bovino associadas a diferentes funções espermáticas como motilidade e viabilidade (Baas et al., 1983), responsáveis pela variação de fertilidade entre touros (Killian et al., 1993; Moura et al., 2006) e facilitadoras da capacitação espermática (Miller et al., 1990; Manjunath e Thérien, 2002). Também na espécie equina, o plasma seminal contém fatores capazes de

estimular ou deprimir a motilidade espermática (Varner et al., 1987). Assim, a adição de plasma seminal aos espermatozóides equinos obtidos do epidídimo provocou um aumento imediato da motilidade espermática (Braun et al., 1994).

A caracterização estrutural das principais proteínas presentes no plasma seminal equino foi iniciada por Calvete et al. (1994). As proteínas isoladas, designadas proteínas do plasma seminal equino (em inglês HSP), numeradas de 1 a 8, possuem massa molecular entre 14 e 30kDa. Com exceção da HSP-4, as demais proteínas apresentaram propriedades ligantes às células espermáticas e puderam ser isoladas dos espermatozóides ejaculados.

Em algumas espécies mamíferas, as proteínas do plasma seminal foram isoladas através de suas propriedades de ligação à heparina. Em bovinos e equinos, a heparina se liga aos espermatozóides ejaculados modulando o processo de capacitação (Miller et al., 1990; Varner et al., 1993). Apesar de os fatores passíveis de influenciar a capacidade dos espermatozóides equinos sofrerem reação acrossômica ainda não terem sido identificados, alguns autores sugerem que os efeitos específicos da heparina sobre os espermatozóides possam ser mediados, *in vivo*, pelas proteínas seminais com propriedades ligantes à heparina (Manjunath e Theriën, 2002). HSP-1, HSP-2 e HSP-5 a 8, demonstraram capacidade de se ligarem à heparina e de se associarem à superfície espermática, indicando uma participação potencial no processo de fertilização (Töpfer-Petersen et al., 2005).

As proteínas HSP-1 e HSP-2 são as mais abundantes no plasma seminal equino, respondendo por 70 – 80% do conteúdo total. Pertencentes à família das pequenas proteínas seminais do tipo Fn2 (Calvete et al., 1995), correspondem às grandes proteínas ligadoras de heparina do plasma seminal bovino (BSPs). A capacidade das proteínas do tipo Fn2 de se ligarem às células espermáticas é mediada por interações específicas com os

lipídios colina presentes na membrana espermática (Müller et al., 1998).

A HSP-3 é membro da família de proteínas secretórias ricas em cisteína (CRISP), sendo sua presença descrita em diversas espécies. Inicialmente identificada no epidídimo de ratos, uma componente desta família demonstrou contribuição no processo de fusão entre o espermatozoide e o oócito (Ellerman et al., 2002). Em algumas espécies, incluindo a equina, foi demonstrado que a expressão dos genes dessa família está sob controle androgênico (Schambony et al., 1998; Jalkanen et al., 2005). No espermatozóide equino, as proteínas tipo CRISP foram localizadas na região equatorial, pós-acrossomal e também na peça intermediária do espermatozóide. Sua associação com a superfície espermática se inicia no corpo do epidídimo (Schambony et al., 1998). Mesmo após lavagem com soluções salinas, verificou-se que um número definido de moléculas CRISP permanece firmemente aderido à membrana espermática. Vale salientar que Reineke et al. (1999) demonstraram estar este número de moléculas CRISP diretamente relacionado à fertilidade individual de garanhões.

A HSP-4 está relacionada a produtos do gene da calcitonina. Em humanos e murinos foi possível estabelecer uma correlação entre a concentração de calcitonina no plasma seminal e a motilidade espermática (Mungan et al., 2001). Além disso, tem sido estabelecido seu efeito na prevenção da super – capacitação e reação acrossômica espontânea através da atuação via adenilato ciclase/ cAMP (Fraser et al., 2005).

As HSP-6 e HSP-8 são diferentes isoformas de uma mesma proteína, pertencente à família de proteínas similares à calicreína, com alto grau de homologia ao antígeno prostático humano (PSA). A HSP-7 representa a proteína equina homóloga à espermadesina AWN que, na espécie suína, parece estar envolvida no estabelecimento do reservatório espermático, capacitação e interação espermatozoide - zona pelúcida. Demonstrou-

se, ainda, a capacidade da HSP-7 em se ligar à zona pelúcida de oócitos equinos intactos, o que sugere uma possível participação desta proteína na interação espermatozóide – zona pelúcida (Reinert et al., 1997). A HSP-7 foi detectada em espermatozoides isolados dos testículos sugerindo sua origem testicular. Durante a sua passagem pelos ductos epididimários, quantidades adicionais de HSP-7 se ligam à superfície espermática, principalmente no segmento equatorial.

No ejaculado equino, a concentração total de proteínas é menor na fração pré-espermática, sendo maior na fração rica em espermatozoides (Koskinen et al., 2002). Quando as proteínas foram isoladas e identificadas no ejaculado fracionado, a maior parte das proteínas do plasma seminal foram HSP-1, HSP-2 e HSP-4 e estavam presentes nas três frações estudadas, embora com variações quantitativas significativas entre os ganhões. Diferenças foram observadas entre as frações, quanto à quantidade de HSP-2, estando as maiores concentrações na fração rica em espermatozoides (Kareskoski et al., 2005).

Outros componentes menores do plasma seminal equino têm sido descritos, dentre eles: a lactoferrina (Inagaki et al., 2002), a leptina e fatores de crescimento, cujos conteúdos foram associados à longevidade espermática (Champion et al., 2002) e outras enzimas como a lipase (Carver e Ball, 2002), α 1,4- glucosidase (Dias et al., 2004), bem como a enzima conversora de angiotensina (Ball et al., 2003).

O plasma seminal é uma rica fonte de antioxidantes com potencial de proteger os espermatozoides do ataque oxidativo durante a estocagem. Em humanos, demonstrou-se que o plasma seminal reduz os danos causados pelas espécies reativas ao oxigênio, diminuindo a ocorrência de fraturas nas moléculas de DNA e a peroxidação dos lipídios (Potts et al., 2000).

Quando em baixas concentrações, os radicais livres, tais como o ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$), o

peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o óxido nítrico (NO_2), em sua maioria originados de atividade metabólica normal dos espermatozoides, têm um papel importante na função espermática, especificamente na fosforilação da tirosina (De Lamirande et al., 1997). Eles podem induzir a hiperativação, capacitação e reação acrossômica. Todavia, quando em altas concentrações são prejudiciais à célula espermática (Ball et al., 2001).

Ball et al. (2001) apontam para a importância do estresse oxidativo, causado pelas espécies reativas ao oxigênio (ROS), sobre a função espermática do sêmen preservado por longo período. Os autores sugerem que a H_2O_2 seja a espécie reativa ao oxigênio mais nociva aos espermatozoides, responsável pela perda da motilidade espermática. O plasma seminal possui sistemas de remoção ROS, sendo a enzima catalase um destes sistemas (Ball et al. 2001). Assim, Koskinen et al. (2002) relataram melhor sobrevivência espermática na presença de maiores concentrações de catalase.

Raijmakers et al. (2003) quantificaram a glutatona-tripeptídeo, co-fator para a glutatona peroxidase e glutatona S transferase, que aponta para uma função protetora contra danos oxidativos. Observaram, ainda, maiores concentrações no plasma seminal de machos férteis. Além disso, verificaram que a motilidade, bem como a morfologia dos espermatozoides foram superiores na presença de maiores concentrações de glutatona.

Na fração rica em espermatozoides foram encontradas altas concentrações de β -glucuronidase (BG), o que corresponde à sua possível origem testicular ou epididimária (Kareskoski et al., 2006). Juntamente com outras enzimas, foi demonstrado na espécie bovina, que a BG acrossômica participa da dispersão das células do cumulus (Rethinaswamy et al., 1994).

Pesch et al. (2006) determinaram as concentrações de diversas enzimas do plasma

seminal equino, verificando a sua correlação com as variáveis utilizadas para a avaliação rotineira do sêmen. A enzima lactato desidrogenase (LDH) mostrou ser um importante fator atuando na função e metabolismo espermáticos, estando fortemente correlacionada com o volume de sêmen, a concentração espermática, o percentual de espermatozóides vivos e mortos e a patomorfologia. As concentrações de fosfatase alcalina (FA) e fosfatase ácida (FAC), aspartato aminotransferase (AAT) e γ -glutamilttransferase (GGT) foram negativamente correlacionadas com o volume de sêmen, embora estivessem positivamente correlacionadas com a concentração espermática, o que poderia indicar, de certa forma, a sua origem testicular ou epididimária.

As concentrações de GGT e LDH também foram correlacionadas com as motilidades espermáticas total e progressiva. A atividade da AAT e o conteúdo protéico total do plasma seminal mostraram-se correlacionados com a congelabilidade do sêmen equino (Bittmar e Kosiniak, 1992).

Em um estudo comparando as características seminais de garanhões da raça Marwari e jumentos franceses, Pal et al. (2009) observaram que as concentrações de glutamato-oxaloacetato-transaminase (GOT), lactato desidrogenase (LDH), proteínas e triglicérides totais foram superiores no plasma seminal de reprodutores asininos. Correlações significativas foram estabelecidas entre as concentrações de GOT e a porcentagem de espermatozóides vivos e móveis no sêmen de bovinos (Roussel e Stallcup, 1965). A origem da GOT foi demonstrada ser epididimária em ovinos (Alumot e Schindler, 1965) e prostática em humanos (Eliasson, 1966).

As quantidades de diferentes eletrólitos e elementos traços variam entre as diferentes frações do plasma seminal, existindo diferenças entre garanhões quanto à concentração de alguns desses componentes. As concentrações de cálcio, fosfato inorgânico e magnésio foram maiores na

fração rica do ejaculado (Kareskoski et al., 2005). No garanhão, aproximadamente 60-75% do cálcio total encontrado no plasma seminal é ionizado, sendo a sua concentração positivamente correlacionada com o volume do ejaculado, de modo que as glândulas sexuais acessórias têm sido responsabilizadas como as principais contribuintes do elemento no plasma seminal (Kareskoski e Katila, 2008).

As concentrações de ferro, zinco e cobre foram negativamente correlacionadas com o volume de sêmen, embora as concentrações de ferro e zinco estivessem também correlacionadas à concentração espermática. As concentrações de ferro e cobre variaram entre as amostras normais e nas apresentando decréscimo da qualidade espermática (Pesch et al., 2006).

As frações contendo fluido pré-espermático apresentaram maiores concentrações de cloro e sódio (Kareskoski et al., 2005), o que poderia afetar a sobrevivência espermática durante o armazenamento (Padilla e Foote, 1991; Kareskoski et al., 2006). Assim, a inclusão de fluido pré-espermático nas doses inseminantes deveria ser evitada, uma vez que não beneficia a motilidade espermática durante o armazenamento, além de não contribuir para o aumento da concentração espermática (Katila et al., 2004).

O potássio é outro eletrólito presente no plasma seminal que têm importância na regulação de algumas funções metabólicas dos espermatozóides. Padilla e Foote (1991) observaram que o sêmen resfriado de garanhões foi melhor preservado quando centrifugado e adicionado potássio e outros íons ao meio diluidor a base de leite.

Troedsson et al. (1998) observaram que quando o sêmen era depositado no útero de éguas, ocorria uma rápida perda de espermatozóides pela vagina, que era maior quando utilizava-se sêmen diluído ou descongelado. Assim, os autores acreditaram que o plasma seminal poderia exercer alguma

influência sobre a permanência dos espermatozóides no sistema genital feminino. Estudos *in vitro* sugerem que o plasma seminal protege os espermatozóides do ataque dos polimorfonucleares (PMN), o que facilitaria seu transporte no sistema genital da égua (Troedsson et al., 2000). Posteriormente, testes *in vivo* realizados pelo mesmo grupo de pesquisadores demonstraram que em éguas com endometrite induzida, após inoculação com espermatozóides mortos, a fertilidade foi prejudicada pela remoção do plasma seminal. Desta forma, a concepção foi de 77% (17/22) para éguas inseminadas com espermatozóides suspensos no plasma seminal, sendo de apenas 5% (1/22) nas éguas inseminadas com espermatozóides suspensos em diluidor (Alghamdi et al., 2004).

No ambiente uterino normal, livre de inflamação, a presença do plasma seminal parece ser desnecessária. Neste sentido, Rigby et al. (2001) inseminaram éguas com espermatozóides centrifugados ressuspensos em diluidor contendo 0 ou 20% de plasma seminal. As taxas de concepção não diferiram, sendo de 76% (13/17) e 72% (13/18), respectivamente. Resultados similares foram obtidos por Katila et al. (2004), quando observou-se taxas de concepção idênticas (62%) para éguas inseminadas na presença ou ausência de plasma seminal.

Kotilainen et al. (1994) demonstraram que o plasma seminal induziu forte influxo de neutrófilos para o lúmen uterino. Fiala et al. (2002) por sua vez, demonstraram que o plasma seminal estimulou uma resposta inflamatória mais exacerbada que o diluidor de sêmen a base de leite. Entretanto, quando o plasma seminal foi utilizado, a reação inflamatória uterina teve menor duração. Provavelmente, este potencial do plasma em reduzir a duração da resposta inflamatória só se expresse na ausência de espermatozóides. Evidência experimental, neste sentido, foi demonstrada por Barreto (2007), quando observou-se que a resposta inflamatória teve a mesma duração, independentemente da

presença ou não das proteínas do plasma seminal.

2.1.1.4. Composição bioquímica das membranas da célula espermática e alterações causadas durante o resfriamento

O espermatozóide é dividido em cabeça, pescoço, peça intermediária, peça principal e peça terminal (Davies-Morel, 1999). Porém, uma subdivisão mais adequada, considerando-se os estudos envolvendo biotecnologias do sêmen, seria considerar o seu núcleo altamente condensado, os microtúbulos, as fibras e finalmente, as membranas biológicas nuclear, mitocondrial, acrossomal interna e externa, e plasmática (Chenier, 2009).

Embora os microtúbulos e a estrutura das fibras sejam importantes para a motilidade espermática, aparentemente as membranas biológicas são mais importantes por serem alvos dos danos causados pelos processos de criopreservação, merecendo ênfase de diversos estudos envolvendo a sua resistência diante destes processos (Amann e Pickett, 1987).

Os espermatozóides ejaculados devem sofrer algumas alterações, primariamente na estrutura das membranas biológicas, para se tornarem aptos a fertilizar o oócito. Estas mudanças são conhecidas como capacitação e reação acrossômica, e permitem que o espermatozóide penetre a zona pelúcida do oócito (Yanagimachi, 1988; Wu et al., 2005). Em condições fisiológicas, a capacitação e a reação acrossômica ocorrem no sistema genital da fêmea, estimuladas por componentes específicos do fluido folicular, embora possam também ser induzidas *in vitro* (Rathi et al., 2003). Se estes eventos ocorrerem durante o armazenamento do sêmen, a viabilidade dos espermatozóides pode ser afetada de forma a comprometer a fertilidade.

As membranas celulares em geral são constituídas por uma dupla camada lipídica,

entremeada por proteínas integrais ou periféricas, num modelo denominado “mosaico fluido”, proposto por Singer e Nicholson (1972). Os lipídios, moléculas anfipáticas, se organizam de modo que os terminais hidrofóbicos se agreguem, e as regiões hidrofílicas se voltem internamente no meio intracelular e externamente no meio extracelular. Este arranjo ocorre nas duas faces da membrana, fazendo com que haja permeabilidade seletiva através da mesma (Graham, 1996). As proteínas periféricas estão associadas à membrana plasmática por fracas interações não covalentes, não estando fortemente ligadas aos lipídios da membrana. Já as proteínas integrais apresentam uma interação mais intensa com a membrana uma vez serem necessários tratamentos mais drásticos para serem removidas, além de permanecerem associadas aos lipídios quando são isoladas.

Em 1988, Aloia et al. acrescentaram complexidade ao modelo “mosaico fluido”, ao descreverem novos conceitos de distribuição e assimetria lipídica, bem como interações lipídio-lipídica e lipídio-protéica. Estas complexas interações formam a base para a organização de domínios dentro do plano da membrana, resultando na sua compartimentalização (Jain, 1988). Na membrana da célula espermática esta compartimentalização é observada quanto à diferente distribuição de lipídios e proteínas entre as regiões peri-acrossomal e pós-acrossomal, peça intermediária, peça principal e cauda (Cardullo e Wolf, 1990).

A composição lipídica da membrana determina a formação dos domínios e sua função. Assim, os domínios formados resultam da combinação de diversos fatores, dentre eles: 1) da interação lipídio-lipídica, inibindo a difusão lateral dessas associações; 2) da imobilidade de lipídios devido a sua interação com proteínas ancoradas ao citoesqueleto; 3) das barreiras protéicas à difusão intrarregional devido às partículas estacionárias transmembrana (possivelmente representadas pelas proteínas integrais) e 4) da solubilidade seletiva dos lipídios e

proteínas dentro dos lipídios que compõe os compartimentos membranares (Cardullo e Wolf, 1990).

Além da existência de domínios, formas alternativas de agregação lipídica podem ocorrer dentro da membrana. Apesar da forma em dupla camada prevalecer nas membranas biológicas, a forma hexagonal também pode ocorrer em menor proporção. A organização hexagonal não forma uma barreira permeável, existindo, provavelmente, somente durante eventos de fusão (Ohki et al., 1988; citado por Parks e Graham, 1992). Os lipídios com tendência à organização hexagonal, denominados “*nonbilayer*” estão envolvidos na formação de anéis em torno das proteínas integrais da membrana, vedando as áreas de transição lipídio-protéicas na membrana. Esta interação com proteínas previne que lipídios “*nonbilayer*” formem arranjos hexagonais, mantendo a configuração em dupla camada dentro da membrana (Parks e Graham, 1992).

Apesar de lipídios e proteínas estarem intimamente associados, as ligações químicas que os unem não são do tipo covalente, podendo ser facilmente alteradas, resultando em função anormal ou ruptura da membrana. À temperatura corporal, os lipídios geralmente são miscíveis e possuem livre movimento lateral dentro de um compartimento da membrana. Sob resfriamento pode ocorrer uma reorganização da estrutura da membrana. Assim, quando ocorre uma redução da temperatura abaixo da temperatura de transição para cada tipo de lipídio que compõe a membrana, estes passam por uma mudança do estado líquido para o gel, de forma que os lipídios com temperaturas de transição similares começam a se agregar (Parks e Graham, 1992). Uma importante característica dessa transição é que os lipídios “*nonbilayer*” possuem temperaturas de transição mais altas que os lipídios organizados em dupla camada. Assim, os lipídios “*nonbilayer*” passam primeiro pela fase de transição, agregando-se em micro-domínios no estado gel, deixando os demais lipídios em estado líquido juntamente com as proteínas. Apesar desta

reorganização não ser prejudicial à membrana sob baixas temperaturas, durante o reaquecimento, os domínios de lipídios “*nonbilayer*” não podem ser forçados à configuração original em dupla camada, através da associação com outros componentes da membrana, resultando em regiões de agregados hexagonais, potencialmente desestabilizadores da membrana (Quinn, 1989). Adicionalmente, interações lipídio-protéicas alteradas podem ocorrer dentro da membrana se os lipídios “*nonbilayer*” forem incapazes de reestabelecer suas associações originais, levando a alterações nas funções protéicas (Parks e Graham, 1992).

As propriedades biológicas e biofísicas das membranas, incluindo a membrana espermática, são determinadas por sua composição molecular. As maiores classes de lipídios presentes nos espermatozóides de mamíferos e aves incluem os fosfolípidos, glicolípidos e os esteróis, não diferindo das demais células animais.

A composição e proporção dos diferentes fosfolípidos dentro das membranas variam entre espécies e, inclusive, entre diferentes regiões da mesma membrana (Amann e Pickett, 1987; Drobnis et al., 1993). A relação entre colesterol: fosfolípidos com cadeias de ácidos graxos poli-insaturadas determina a fluidez da membrana (Houslay e Stanley, 1982- citado por Amann e Pickett, 1987), de forma que, em geral, quanto mais colesterol presente na composição da membrana, menos fluida ela se apresentará (Amann e Pickett, 1987; Amann e Graham, 1993; Drobnis et al., 1993).

Segundo Woelders (1997), a redução da temperatura, abaixo da temperatura corporal, causa transição de fase nos lipídios da membrana. Observa-se que diferentes lipídios têm temperaturas de transição distintas; assim, alguns deles irão se agregar em domínios sob a forma de gel excluindo, portanto, outros que ainda permanecem em estado líquido cristalino. Proteínas de membrana são também excluídas destes

domínios sob forma de gel e, conseqüentemente, deslocadas para um ambiente não fisiológico que as impede de manter a integridade estrutural.

As alterações causadas aos espermatozóides durante o resfriamento (entre 20°C a 1°C) são parcialmente compreendidas, sendo coletivamente denominadas de “*cold shock*” ou choque pelo frio, caracterizado pela presença de muitos espermatozóides com movimento circular fechado ou retrógrado, perda prematura da motilidade, decréscimo da produção de energia, aumento da permeabilidade da membrana, lesões no acrossoma e perda de moléculas e íons (Amann e Pickett, 1987; Davies-Morel, 1999; Squires et al., 1999). O choque pelo frio não é um fenômeno exclusivo das células espermáticas, mas sim de todas as células submetidas ao resfriamento.

Além disso, as alterações sofridas pelas membranas espermáticas durante o processo de criopreservação induzem mudanças no acrossoma, concorrendo para uma redução da sobrevivência dos espermatozóides, diminuindo a sua longevidade e a sua capacidade fecundante quando utilizados para as inseminações (Marshburn et al., 1992). Além disso, tais mudanças afetam negativamente as funções espermáticas no sistema genital feminino (ligação às células epiteliais da tuba uterina, capacitação, reação do acrossoma, ligação e finalmente penetração da zona pelúcida do oócito (Flesh e Gadella, 2000).

A extensão das lesões associadas ao choque pelo frio depende principalmente das taxas de resfriamento e da temperatura final de armazenamento do sêmen. Em oposição ao rápido resfriamento, o aquecimento rápido à 37°C raramente é nocivo à sobrevivência espermática (Amann e Pickett, 1987).

Ainda de acordo com Amann e Pickett (1987), as lesões advindas do choque pelo frio podem ser agrupadas em diretas ou indiretas. As lesões diretas são evidenciadas após curto período de armazenamento à baixas temperaturas e são dependentes das taxas de

resfriamento. Já as lesões indiretas, se tornam evidentes após períodos mais prolongados de armazenamento, sendo independentes das taxas de resfriamento. Apesar desta divisão, os autores concluem que ambas, lesões diretas e indiretas, são manifestações distintas do mesmo espectro de alterações.

Segundo Amann e Graham (1993) o resfriamento induz efeitos mais marcantes na fertilidade do que na motilidade espermática, uma vez que outros elementos da membrana celular podem alterar-se com a queda da temperatura, tais como as proteínas envolvidas no transporte de íons. A diminuição da capacidade enzimática e do transporte de proteínas, perda de lipídios e de potássio são outros danos causados durante o resfriamento (Pickett e Komarek, 1966; Amann e Graham, 1993; Drobnis et al., 1993).

A susceptibilidade ao choque pelo frio é espécie-dependente, tanto para os danos causados como para a temperatura em que esses danos se iniciam (temperatura da fase de transição), devido às diferenças na composição e proporção de fosfolipídios que compõe as membranas espermáticas dos mamíferos (Pickett e Komarek, 1966; Amann e Pickett, 1987; Drobnis et al., 1993). As membranas que apresentam uma alta relação colesterol: fosfolípidos são mais resistentes ao choque pelo frio. Assim, como nos espermatozóides dos equinos e suínos essa relação é baixa, as células dessas espécies são sensíveis ao resfriamento (Amann e Pickett, 1987; Valle e Silva Filho, 2002). O colesterol estabiliza a membrana espermática, diminuindo a temperatura na qual ocorre a fase de transição. A perda de colesterol espermático tem efeito desestabilizante na membrana plasmática *in vitro*, de forma que a alteração no conteúdo de esteróis tem sido implicada no processo de capacitação em diversas espécies (Parks e Ehrenwald, 1990).

2.1.1.5. Diluidores do sêmen de equídeos

Quando mantidos no fluido seminal sem nenhuma diluição, os espermatozóides não

sobrevivem por mais de 12 horas (Heiskanen et al., 1987). A sua rápida morte é causada por condições de pH desfavoráveis levando à estimulação constante, pela ausência de anabiose natural e desintegração da cápsula lipídica e pela escassez de glicose, resultando em rápido consumo das fontes de energia (possivelmente lipídicas). Assim, qualquer técnica de estocagem do sêmen deve ser baseada na neutralização dessas influências (Palhares, 1997).

A adição de diluidores ao sêmen tem como objetivos proteger os espermatozóides de condições ambientais desfavoráveis e prolongar a sua sobrevivência (Pickett e Amann, 1987; Brinsko e Varner, 1993), bem como aumentar a viabilidade do sêmen de reprodutores subfêrteis (Blanchard et al., 1987). Além disso, a utilização de diluidores permite a redução das perdas de espermatozóides no equipamento de inseminação, quando são utilizados pequenos volumes de sêmen altamente concentrado, o prolongamento da viabilidade dos espermatozóides e a incorporação de antibióticos, no sentido de reduzir o número de bactérias introduzidas no útero de éguas. Tem possibilitado, ainda, o resfriamento, o armazenamento e o transporte a longas distâncias, bem como o congelamento do sêmen (Pickett e Voss, 1975).

Henriet et al. (1982), baseando-se na equação bioquímica do transporte espermático, preconizam que, para uma boa preservação da viabilidade dos espermatozóides torna-se necessária a adição de energia e de metabólitos, bem como a repressão de enzimas e do abaixamento do pH. Substratos metabolizáveis, tais como a glicose, constituem boa fonte de energia, enquanto os antibióticos devem também ser adicionados aos diluidores para retardar ou eliminar o crescimento bacteriano (Tischner, 1988; Varner, 1991). O diluidor deverá ter pressão osmótica compatível com a dos espermatozóides, balanço adequado de elementos minerais e uma combinação equilibrada de nutrientes e compostos químicos capazes de neutralizar os produtos

tóxicos produzidos pelos espermatozóides (Pickett, 1993b).

Ao longo dos anos uma grande variedade de diluidores combinando diversos componentes (açúcares, eletrólitos, tampões, gema de ovo, leite e produtos do leite, albumina sérica bovina) foi proposta para o resfriamento, armazenamento e transporte do sêmen equídeo. A maioria dos diluidores contendo sais orgânicos ou inorgânicos são inadequados para o uso no sêmen equino (Bogart e Mayer, 1950; Hughes e Loy, 1970), enquanto aqueles constituídos por glicose mantêm a viabilidade espermática (Bogart e Mayer, 1950). Substratos metabolizáveis como frutose, lactose, rafinose, sacarose, piruvato e, mais comumente, a glicose são apropriados para a produção de ATP pelos espermatozóides. Apesar do diluidor ideal, capaz de oferecer a longevidade máxima às células espermáticas, ainda esteja por ser formulado, grande número deles tem sido utilizado com este propósito (Silva Filho, 1994).

Numerosos são os estudos comparando a eficiência de diluidores com diferentes composições para a manutenção da viabilidade espermática, principalmente na espécie equina. Entretanto, a maioria baseia-se nos parâmetros de motilidade espermática, que nem sempre refletem a sua real capacidade fertilizante (Katila, 1997). A redução da fertilidade resultante do armazenamento *in vitro* do sêmen, pode não corresponder exatamente ao decréscimo na motilidade. Deste modo, a única maneira precisa de se medir a capacidade fertilizante do sêmen é através do teste de fertilidade *in vivo* (Varner et al., 1987). A relação entre motilidade e fertilidade permanece obscura, em parte pela natureza subjetiva deste tipo de avaliação, pela variação existente entre garantões e entre ejaculados do mesmo garantão (Douglas-Hamilton et al., 1984; de Vries et al., 1987; Jasko et al., 1991).

De um modo geral, os diluidores seminais se dividem em dois grandes grupos com base na origem das macromoléculas que os compõem: a) a base de leite e derivados: leite desnatado aquecido ou não (Kenney et al., 1975; Douglas-Hamilton et al., 1984, 1987; Pickett, 1993b, Boeta e Quintero, 2000; Rozas, 2005); creme-gelatina (Hughes e Loy, 1970; Burns et al., 1975); fosfocaseinatos (Battelier et al., 1997, 1998; Contri et al., 2010); b) a base de gema: Baken (Nishikawa, 1959; Palmer, 1984; Mello et al., 2000), glicina –gema (de Vries, 1987; Rossi, 2008), lactose-gema (Silva, 1988; Ferreira, 1993; Silva Filho, 1994); lactose-gema-EDTA (Loomis et al., 1983, Cristanelli et al., 1985). A combinação destas duas macromoléculas também tem sido utilizada na composição de diluidores seminais (Jasko et al., 1992a; Bedford et al., 1995; Rota et al., 2008).

Os diluidores utilizados para o sêmen asinino descritos na literatura são basicamente os mesmos para o sêmen equino, sem evoluções no sentido de se desenvolver diluidores mais adequados para esta espécie. Vale ressaltar que a maioria dos estudos conduzidos visando à comparação entre diluidores utilizados para o sêmen de jumentos adota, como ponto final, a avaliação dos parâmetros físicos do sêmen como preditores da fertilidade, sendo poucos os estudos que avaliaram a real capacidade fertilizante do sêmen asinino diluído e resfriado, como pode ser observado na Tabela 1.

Tabela 1. Taxas de concepção, em éguas, advindas da utilização do sêmen asinino resfriado utilizando-se diferentes diluidores.

Referência	Diluidor	Temperatura de armazenamento (°C)	Tempo de armazenamento máximo (h)	Taxa concepção (%)
Ferreira (1993)	Lactose – Gema de Ovo	5	24	80
	Lactose – gema de ovo	5	48	75,90
Boeta e Quintero (2000)	Leite UHT	5	24	76,5
	Leite desnatado – glicose	5	24	54,5
Rossi (2008)	Glicina gema de ovo	5	12	49
	Leite em pó desnatado glicose	5	12	51
Vidament et al. (2009)	Leite UHT	4	8	45

2.1.1.5.1. Macromoléculas utilizadas no diluidor

Para minimizar os efeitos negativos do resfriamento torna-se necessário controlar a taxa de resfriamento, na faixa crítica de temperatura, através da utilização de curvas adequadas e também pela adição de macromoléculas ao diluidor (Graham, 1996). Na década de 80, iniciou-se a utilização do leite fresco desnatado para a preservação do sêmen equino resfriado, similarmente ao que era utilizado para o sêmen bovino (Thacker e Almquist, 1953).

Para a preservação espermática, o leite integral ou desnatado tem sido utilizado como meio no qual o sêmen é diluído diretamente, podendo ser estocado à 4°C ou congelado na presença de glicerol (Kakar e Ganguli, 1978; Boeta e Quintero, 2000). Uma vez que o leite desnatado é tão eficiente quanto o leite integral para a proteção dos espermatozoides, durante o resfriamento ou congelamento (Almquist et al., 1954; Foote et al., 2002), os lipídios não parecem ser os constituintes responsáveis pela proteção conferida pelo leite.

Diante disso, Householder et al. (1981) obtiveram taxas de concepção similares (62,5; 62,5 e 43,8%), ao final de três ciclos, ao utilizarem sêmen equino diluído em três diferentes diluidores a base de leite - leite desnatado, leite desnatado-gelatina e creme gelatina – para a inseminação de éguas.

A utilização de leite fresco para a diluição do sêmen equino tem como limitante a presença da enzima lactenina, que apresenta toxicidade para os espermatozoides dessa espécie. Householder et al. (1981) compararam a porcentagem de espermatozoides com motilidade progressiva diluídos em leite desnatado fresco, submetido ou não ao aquecimento e armazenados sob diferentes temperaturas. A motilidade progressiva foi superior para os espermatozoides diluídos no leite previamente aquecido, independentemente da temperatura de armazenamento. Assim, demonstrou-se que o leite deve ser submetido ao aquecimento a 92-95°C, por 10 minutos (Province et al., 1985).

Durante o tratamento térmico, várias modificações são induzidas na estrutura do leite, observando-se, dentre elas, o aumento do diâmetro das micelas de caseína, a desnaturação parcial das proteínas do soro e

enzimas, liberação de grupos sulfídrica (SH) e a adsorção de íons nas micelas de caseína, reduzindo, assim, a concentração de minerais. Porém, dentre elas, a desnaturação enzimática parece ser a modificação mais importante no leite, o que explica a diferença de sobrevivência espermática entre o leite cru e o leite UHT. Tal confirmação veio pela observação de que o aquecimento afetou somente as frações contendo proteínas solúveis (Batellier et al., 1997).

Em um amplo estudo, Meirelles et al. (1998) avaliou a motilidade progressiva (MP) do sêmen equino diluído e resfriado a 4°C. Nos tempos zero, 24 e 48 horas após diluição a MP foi de 48%, 18% e 5%, respectivamente, para o leite em pó desnatado não aquecido; de 48%, 21% e 6% para o leite em pó desnatado, aquecido e inativado; de 49%, 14% e 5% para o leite UHT tipo A; de 48%, 17% e 6% para o leite UHT tipo B; e de 44%, 0% e 0% para o controle (não diluído). Observou-se neste trabalho, que a adição de diluidores prolongou significativamente a manutenção da motilidade espermática. Para o leite UHT, observou-se grande variabilidade entre as diferentes partidas, com respostas inconstantes. No leite tipo A observou-se uma queda significativa da motilidade às 24 horas de armazenamento ($p < 0,05$), em relação aos demais diluidores, possivelmente pela maior quantidade de gordura provocar maior aglutinação dos espermatozoides. Ao utilizarem o sêmen a fresco diluído, dentro de uma hora pós-coleta, para a inseminação de éguas, não se observou diferenças nas taxas de gestação/ciclo entre o sêmen diluído no diluidor de leite em pó desnatado não aquecido (68,0%) ou no mesmo diluidor, previamente aquecido/inativado (72,2%). Assim, concluiu-se nesse estudo, não haver necessidade de se aquecer o diluidor para diluir o sêmen equino, possivelmente, pelo tratamento térmico prévio sofrido pelo leite em pó, durante a sua produção.

O diluidor de mínima contaminação proposto por Kenney et al. (1975), constituído por uma associação de leite em pó desnatado-glicose, têm sido utilizado por vários pesquisadores

seja para a avaliação da manutenção das características espermáticas *in vitro* (Douglas-Hamilton et al., 1984; Varner et al., 1987; Ferreira, 1993; Santos, 1994) ou da capacidade fertilizante do sêmen *in vivo* (Province et al., 1985; Douglas-Hamilton et al., 1987; Varner et al., 1989; Silva Filho, 1994; Boeta e Quintero, 2000; Rossi, 2008).

Em éguas inseminadas com sêmen asinino diluído em diluidor a base de leite desnatado-glicose ou diluído em leite desnatado ultrapasteurizado (UHT), Boeta e Quintero (2000) obtiveram taxas de concepção, ao primeiro ciclo, de 54,5% (6/11) e 76,5% (13/17), respectivamente. Saporiti (2004) utilizaram leite desnatado UHT como diluidor para o sêmen equino destinado ao armazenamento à 5°C e para a inseminação de éguas. Observou-se, neste experimento, uma motilidade progressiva de 60,8%, 43,5%, 19,5% e 3,7% para as doses inseminantes armazenadas por zero, 24 horas, 48 horas e 72 horas, respectivamente. Apenas doses inseminantes armazenadas por até 24 horas foram utilizadas para a inseminação de éguas, resultando em uma taxa de concepção total de 75%. Estes trabalhos demonstraram a viabilidade da utilização do leite desnatado ultrapasteurizado como diluidor para o sêmen de equídeos.

Também utilizando sêmen asinino diluído em leite desnatado ultrapasteurizado, entretanto, para a inseminação de jumentas, Rozas (2005) obtiveram taxas de concepção por ciclo de 25,66% (29/113) e 47,36% (18/38), durante duas estações de monta consecutivas. Posteriormente, Vidament et al. (2009) utilizaram sêmen asinino diluído em leite UHT, resfriado e armazenado a 4°C por até 8 horas, e obtiveram uma taxa de concepção por ciclo de 45%, quando inseminaram éguas e jumentas.

As micelas de caseína isoladas do leite são capazes de proteger o sêmen de equinos, caprinos, ovinos e bovinos durante o armazenamento à 4-5°C (Choong e Wales, 1962; Martin, 1966; O'Shea e Wales, 1966; Batellier et al., 1997; Leboeuf et al., 2003).

Dentre os componentes da caseína, Battelier et al. (1997) demonstraram que os fosfocaseinatos nativos (NPPC), e a β -lactoglobulina foram benéficos à sobrevivência espermática *in vitro* enquanto a α -lactoalbumina foi deletéria. Embora o componente do leite responsável pelo efeito crioprotetor, durante o resfriamento, tenha sido identificado, o mecanismo exato pelo qual ele atua permanece incerto.

Uma vez identificadas as frações do leite capazes de proteger os espermatozóides dos danos causados durante o resfriamento, foi possível o desenvolvimento e a utilização de um diluidor contendo frações protéicas definidas do leite, os parafosfocaseinatos, sendo este denominado INRA96®. Estudos conduzidos com sêmen equino demonstraram superioridade do diluidor INRA96® em relação a outros diluidores a base de leite, quanto à manutenção das características espermáticas (Battelier et al., 1997, 2001).

Contri et al. (2010) adotaram o protocolo de centrifugação do sêmen asinino previamente à sua diluição em dois diluidores comerciais a base de leite desnatado (INRA96® e E-Z Mixin®). Durante o armazenamento à 5°C, observaram que, independentemente do diluidor utilizado, houve uma redução gradativa dos parâmetros cinemáticos avaliados até às 96 horas de armazenamento, sendo estes valores similares aos observados às 120 horas. Apesar de apresentarem parâmetros similares logo após a diluição, os diluidores apresentaram diferentes velocidades de queda da viabilidade espermática. Assim, durante o período de dias longos, o INRA96® manteve uma motilidade progressiva satisfatória (PMOT 35,7±10,1%) e um adequado padrão de movimento (STR 88,8±5,7%) até às 120 horas de armazenamento, enquanto o E-Z Mixin® manteve estas características (PMOT de 32,4±8% e STR de 81,9±9,1%) até às 48 horas. Durante os meses de dias curtos, a queda da qualidade seminal durante o resfriamento se deu da mesma forma; entretanto, observou-se uma queda mais acentuada para os dois diluidores utilizados.

Desta forma, o sêmen diluído no meio INRA96® apresentou PMOT de 21,2±4,7% às 48 horas de armazenamento e o diluído no E-Z Mixin® apresentou PMOT insatisfatória já às 24 horas de armazenamento (15±3,5%).

Philips e Lardy (1940) foram os primeiros a recomendar a utilização da gema de ovo como ingrediente de diluidores para o sêmen bovino destinado ao transporte ou armazenamento. Já em 1942, Berliner relata a utilização da gema de ovo em diluidores tamponados para equinos.

Apesar da gema de ovo e do leite serem ingredientes presentes nos diluidores para várias espécies há mais de meio século, o mecanismo exato de proteção conferido por eles permanece desconhecido. Segundo Foulkes (1977) e Quinn et al. (1980) componentes específicos da gema de ovo, como lipoproteínas e fosfolípidos, são os responsáveis pela proteção da estrutura da membrana plasmática dos espermatozóides.

Foulkes (1977) separou as frações lipoprotéicas da gema (F1, F2 e F3) através de centrifugação e cromatografia de coluna, e utilizou cada uma delas, separadamente, para a criopreservação do sêmen bovino. A fração F3, correspondente a fração de baixa densidade, foi a que conferiu melhores resultados quanto à preservação da motilidade espermática pós-descongelamento. Este autor verificou também que lipoproteínas da gema de ovo, radioativamente marcadas, se ligam fortemente à membrana espermática, não sendo removidas mesmo após sucessivas lavagens.

Especula-se que esta associação entre as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e a membrana espermática confere estabilidade e proteção à mesma (Watson, 1975; Foulkes, 1977; MacDonald e Foulkes, 1981). Outra hipótese seria que fosfolípidos presentes nas LDL protegeriam os espermatozóides ao formarem um “filme” sobre sua membrana (Quinn et al., 1980) ou que esses fosfolípidos substituíram aqueles perdidos pela membrana espermática durante o processo de

resfriamento (Foulkes et al., 1980; Graham e Foote, 1987). Estudos mais recentes comprovaram, entretanto, que as LDL presentes na gema de ovo se ligam às proteínas do plasma seminal (BSPs) responsáveis pelo efluxo de colesterol da membrana espermática, um dos fatores desencadeantes da capacitação espermática (Manjunath et al., 2002). Logo, a indisponibilidade das BSPs diminuiria o efluxo de colesterol e fosfolípidos da membrana, influenciando positivamente no armazenamento espermático sob estado líquido ou congelado. Segundo os pesquisadores, o sequestro das proteínas BSPs do plasma seminal pelo LDL seria o maior mecanismo de proteção oferecido pela gema de ovo (Bergeron e Manjunath, 2006).

Bogart e Mayer (1950) avaliaram os efeitos da associação da gema de ovo a soluções ionizáveis (fosfato de sódio, fosfato de potássio, citrato de sódio e carbonato de sódio) ou não (glicose) sobre a viabilidade espermática de garanhões. As amostras de sêmen diluídas em soluções isotônicas com sais altamente ionizáveis apresentaram menor sobrevivência espermática após 48 horas de armazenamento. Também nestas amostras, a porcentagem de células sobreviventes ao choque térmico provocado, não diferiu da observada para o sêmen não diluído. Entretanto, quando a gema de ovo foi adicionada a estas soluções tampão, o efeito deletério dos compostos ionizáveis foi neutralizado, embora o diluidor tampão-gema permanecesse inferior ao glicose-gema.

Nishikawa (1959) ao utilizar diluidor contendo 3% de gema (Baken) para o armazenamento do sêmen à 4°C observou uma longevidade espermática de até 360 horas para o sêmen equino e de 337 horas para o sêmen asinino. Mann et al. (1963) observou motilidade espermática de 60% no oitavo dia de armazenamento à 5°C para o sêmen asinino centrifugado, diluído em diluidor contendo 16,6% de gema de ovo.

Para o ejaculado total de jumentos, Ferreira (1993) obteve viabilidade espermática

(MP>10%) por 96 horas com a utilização de diluidor contendo 20% de gema de ovo. Beker (1997) utilizou o diluidor Baken, proposto por Nishikawa (1959), para diluição e resfriamento da fração rica do ejaculado de jumentos e observou uma viabilidade espermática (motilidade progressiva > 10%) por 120 horas, resultado inferior ao obtido por Nishikawa (1959).

Silva (1988) utilizou o diluidor de Nagase e Graham (1964) modificado pela remoção do glicerol, contendo 20% de gema de ovo, para a diluição do sêmen de jumentos em um programa de reprodução destinado à produção de muare. Utilizando o sêmen fresco diluído, os índices de concepção ao primeiro ciclo e totais, obtidos durante três estações de monta consecutivas, foram de 52,4% e 68,3%, 52,2% e 82,3%, e 68,5 e 92,1%, respectivamente. Ao utilizar o mesmo diluidor, obteve-se uma taxa de concepção por ciclo de 80% para o sêmen asinino armazenado por 24h à 5°C e de 75,90% quando o tempo de armazenamento foi de 48 horas (Ferreira, 1993).

Após vários experimentos, Palmer (1984) relatou que os melhores resultados de fertilidade quando do uso do sêmen resfriado de garanhões estiveram associados com a utilização do diluidor a base de leite, em detrimento da gema de ovo. Já Ferreira (1993), comparando diluidores a base de leite (Kenney et al., 1975) ou gema de ovo - Nagase e Graham (1964) modificado por Silva Filho et al. (1987), para a manutenção da viabilidade espermática *in vitro* do sêmen asinino resfriado a 5°C, observou superioridade do diluidor a base de gema de ovo. Também Oces et al. (1984) obtiveram melhores resultados em jumentos da raça “Remonta Argentina” ao utilizar diluidores contendo gema de ovo.

A inclusão de gema de ovo nos diluidores seminais de equídeos tem apresentado resultados diferentes, o que pode ser atribuído às diferenças em sua composição e na porcentagem de gema de ovo adicionada aos diluidores. Além disso, parece haver uma

interação entre a presença de plasma seminal e da gema de ovo na determinação da viabilidade espermática.

Neste sentido, Jasko et al. (1992a) observaram que para o sêmen equino cujo plasma seminal foi removido por centrifugação, a adição de 4, 8 ou 16% de gema de ovo ao diluidor a base de leite em pó desnatado-glicose resultou em aumento das motilidades total e progressiva quando comparado ao diluidor sem adição de gema de ovo. Os melhores resultados foram observados até às 48 horas de armazenamento à 5°C. A motilidade não diferiu entre os tratamentos contendo 4, 8 ou 16% de gema de ovo. Resultados similares foram obtidos por Bedford et al. (1995). Assim, ao utilizarem diluidor a base de leite em pó desnatado-glicose, contendo ou não 4% de gema de ovo, observaram que às 24 e 48 horas de armazenamento à 5°C, as motilidades total e progressiva foram inferiores para o sêmen armazenado em diluidor contendo gema de ovo. Entretanto, quando realizada a centrifugação para retirada do plasma seminal e posterior diluição do sêmen em diluidor a base de leite contendo ou não 4% de gema de ovo, observou-se menor motilidade progressiva às 48 horas ($p < 0,05$) de armazenamento para os espermatozóides diluídos no diluidor a base de leite sem gema de ovo. Assim, a presença de gema de ovo no diluidor mostrou-se benéfica para preservação da motilidade espermática quando o sêmen foi submetido à remoção do plasma seminal.

Também Heitland et al. (1995) obtiveram incremento da motilidade espermática após 24 horas de armazenamento a 5°C, quando da adição de 4% de gema de ovo ao diluidor a base de leite, associado à taxa de recuperação embrionária de 69% por ciclo. Taxas de recuperação bem inferiores foram obtidas por Bedford et al. (1995) quando da inseminação de éguas com sêmen centrifugado, diluído em diluidor a base de leite, contendo 4% de gema de ovo (17%).

No Brasil, Carvalho (1994) comparou as taxas de fertilidade obtidas com sêmen equino

a fresco diluído em diluidor a base de leite desnatado-glicose, ou em diluidor de lactose-gema de ovo e transportado a 15-20°C, sendo que os resultados obtidos não diferiram entre os dois procedimentos.

Em um estudo conduzido por Silva Filho (1994), a fertilidade de éguas, inseminadas com sêmen diluído nos diluidores lactose-gema, glicina-gema, leite desnatado-glicose e o sêmen *in natura*, foram comparadas, obtendo-se taxas de concepção ao primeiro ciclo (71,43%; 61,54%; 78,57% e 78,57%) e concepção/ciclo (70,59%; 56,25%; 81,25% e 83,33%) para os tratamentos na ordem em que foram citados, respectivamente. Apesar do pequeno número de ciclos/tratamento (16-18), não foram observadas diferenças ($p > 0,05$) entre os mesmos, estando este estudo de acordo com o que tem sido observado pela literatura mundial, segundo a qual o uso de qualquer diluidor não conseguiu superar as taxas de concepção do sêmen *in natura*.

Na espécie asinina, Mello et al. (2000) relataram superioridade do diluidor Baken modificado (10% de gema de ovo) em relação ao diluidor a base de leite em pó desnatado-glicose, na manutenção das características físicas (motilidade total e progressiva, vigor) do sêmen de jumentos, tanto para a fração rica em espermatozóides quanto para o ejaculado total. Um aumento gradual (6 a 9%) nas anormalidades espermáticas foi observado entre os dias 3 e 6 de armazenamento em ambos os diluidores, embora as anormalidades espermáticas fossem menores aos seis dias de armazenamento, no sêmen diluído em diluidor Baken modificado.

Para a inseminação de éguas com sêmen asinino diluído e resfriado por até 12 horas, Rossi (2008) utilizou diluidores a base de leite (leite em pó desnatado-glicose) e de gema (glicina-gema de ovo) e obteve taxas de concepção por ciclo similares entre os grupos experimentais, 51% e 49%, respectivamente.

Rota et al. (2008) compararam a utilização de três diferentes diluidores, sendo dois deles a

base de leite desnatado (INRA96® e INRA82®) e um acréscimo de 2% de gema de ovo centrifugada (INRA82-Y) para a preservação do sêmen de três jumentos da raça Amiata. Logo após a diluição, o sêmen diluído no diluidor contendo gema de ovo apresentou parâmetros de velocidade e linearidade superior aos observados para os demais tratamentos. Até às 72 horas de armazenamento à 5°C a motilidade total e a velocidade dos espermatozóides foram superiores neste diluidor em comparação aos demais. A motilidade progressiva não diferiu entre os tratamentos apenas na avaliação correspondente às 24 horas de armazenamento, sendo para os tempos de 48 e 72 horas superior no sêmen diluído no diluidor INRA82 -Y.

Palm et al. (2008) avaliaram a reação endometrial produzida por diferentes diluidores de sêmen: PBS, plasma seminal, diluidor a base de leite e um a base de gema de ovo. Lavagens uterinas e biópsias endometriais foram realizadas antes e 12 horas pós-tratamento. Neste experimento, não se encontrou diferenças em relação ao volume, pH, densidade e celularidade dos lavados uterinos entre os tratamentos, embora houvesse menor número de leucócitos nas biópsias pré- tratamento. O número de polimorfonucleares foi menor ($p < 0,01$) após a infusão de diluidor a base de gema de ovo, em relação aos demais tratamentos. A infiltração por eosinófilos foi maior ($p < 0,05$) após a infusão de plasma seminal. Todos os tratamentos aumentaram a expressão endometrial de interleucinas 1b e 6, do fator de necrose tumoral α (TNF α) e da cicloxigenase 2 (COX2).

Muitos autores consideram que, por se tratarem de produtos de origem animal, a gema de ovo e o leite representam um risco potencial de contaminação do sêmen, além de não possuírem composição uniforme (Bergeron e Manjunath, 2006). Assim, a purificação dos constituintes do leite possibilitou o desenvolvimento de diluidores quimicamente definidos com fosfocaseinatos nativos (INRA96® e Equipro®).

Em relação à gema de ovo, a sua substituição por lecitina de soja foi utilizada na criopreservação do sêmen bovino (Aires et al., 2003). Ricker et al. (2006) observaram que fosfatidilcolinas oriundas da gema de ovo ou da soja, e utilizadas em igual proporção, conferiram proteção similar para a membrana espermática durante a criopreservação do sêmen equino. No mesmo sentido, quando a gema de ovo foi substituída pela lecitina de soja na composição do diluidor BotuCrio® (Felício, 2008), não observou-se efeitos sobre a viabilidade dos espermatozóides equinos pós-descongelamento. Entretanto, houve redução significativa da fertilidade. Por outro lado, quando incorporada ao diluidor AndroMed®, a lecitina de soja possibilitou bons resultados quando do armazenamento do sêmen equino resfriado (Aurich et al., 2007).

Outra macromolécula, a albumina sérica bovina (BSA) tem sido utilizada na formulação de diluidores de sêmen de diferentes espécies de animais domésticos. A BSA é uma proteína plasmática sanguínea, conhecida por suas propriedades estimulantes e preservativas da motilidade espermática (Müller, 1992). Tem a capacidade de reduzir a peroxidação lipídica, preservando a motilidade espermática devido, possivelmente, à seleção de uma população de espermatozóides móveis, com menor número de alterações patológicas (Kreider et al., 1985). Além disso, seu efeito está associado à alteração da composição lipídica da membrana plasmática dos espermatozóides (Langlais e Roberts, 1985), bem como à remoção de catabólitos capazes de lesar a membrana plasmática (Weber, 1989).

É possível que em espermatozóides equinos, a albumina sérica bovina atue como quelante, de forma a reduzir, parcialmente, a ação do cálcio ionóforo, e assim a sua eficiência em causar mudanças similares à capacitação. Em contraste, alta concentração de BSA aumentou a capacitação de espermatozóides bovinos (Parrish et al., 1989).

Kreider et al. (1985) utilizaram sete garanhões para avaliar a motilidade

espermática do sêmen resfriado, adicionando 3% de BSA no plasma seminal ou em diluidores a base de leite. Os resultados mostraram que a BSA protegeu os espermatozoides dos efeitos nocivos da peroxidação lipídica. Assim, os autores concluíram que a inclusão de BSA nos diluidores seminais pode prolongar a manutenção da motilidade espermática. Pruitt et al. (1988) obtiveram taxas de concepção de 95% e 86% para 47 e 46 éguas inseminadas, respectivamente, com sêmen diluído em diluidor de sacarose-BSA ou creme-gelatina. Apesar disso, na espécie asinina não há relatos da inclusão de BSA nos diluidores de resfriamento, sendo sua utilização restrita aos diluidores de congelamento (Jepsen et al., 2010).

2.1.1.5.2. Utilização de crioprotetores penetrantes

Segundo a sua capacidade de penetrar nas células, Hammerstedt et al. (1990) classificaram os crioprotetores em externos (não penetrantes) ou internos (penetrantes). Os principais crioprotetores penetrantes empregados para a criopreservação do sêmen equídeo são: glicerol, etilenoglicol, propilenoglicol, dimetilsulfóxido, acetamida, dimetilformamida e a metilformamida (Keith, 1998; Oliveira, 2005; Canisso, 2008). Os crioprotetores não penetrantes são os açúcares, lipoproteínas da gema de ovo, proteínas do leite, metilcelulose, pentoxifilina, dentre outros (Keith, 1998; Moussa et al., 2002). Os efeitos das macromoléculas no processo de resfriamento do sêmen foram descritos no tópico anterior. Os crioprotetores não penetrantes exercem sua ação no meio externo, aumentando a porcentagem de água sem congelar à baixas temperaturas e assim, reduzindo a concentração de sais nestes canais de água (Amann e Pickett, 1987).

Os crioprotetores penetrantes atuam substituindo a água intracelular, reduzindo o estresse osmótico causado pela desidratação, mantendo o volume celular e diminuindo seu ponto de congelação. Apesar de ser o

crioprotetor mais utilizado para a criopreservação do sêmen, o mecanismo exato pelo qual o glicerol protege as células dos danos causados pelo congelamento – descongelamento não está totalmente compreendido. Entretanto, Amann e Pickett (1987) sugeriram que a atuação maior do glicerol seria extracelular. No entanto, está claro que o glicerol é capaz de permear a membrana plasmática e exercer o efeito no interior do citoplasma. Além dos efeitos osmóticos, o glicerol parece também ter efeitos diretos sobre a membrana plasmática. Desta forma, algumas evidências sugerem que o glicerol se liga diretamente aos fosfolípidos de membrana, reduzindo a sua fluidez, podendo ainda interagir com proteínas ligadoras na membrana e glicoproteínas, formando agrupamentos de partículas intramembrana (Armitage, 1986; citado por Parks e Graham, 1992).

A adição de crioprotetores permeantes aos diluidores utilizados para o resfriamento do sêmen tem efeitos diferentes de acordo com a espécie. Na espécie bovina, a inclusão de glicerol no diluidor a base de leite prolongou a viabilidade espermática, quando os espermatozoides foram mantidos sob resfriamento à 5°C. Com isso, aumentou-se o tempo de armazenamento de dois para mais de quatro dias, acompanhado por uma taxa de concepção satisfatória (Almquist e Wickersham, 1962). Na espécie equina, o efeito da adição de 7% de glicerol ao diluidor utilizado para o resfriamento do sêmen foi estudado por Demick et al. (1976). As taxas de concepção ao primeiro ciclo obtidas foram de 38,9 e 5,6% para o sêmen resfriado a 5°C por duas horas na presença ou ausência de glicerol, respectivamente, havendo diferenças ($p < 0,05$) entre os tratamentos.

Bedford et al. (1995) avaliaram o comportamento do sêmen equino submetido a quatro tratamentos: 1) diluído em diluidor a base de leite em pó desnatado-glicose (LPDG), 2) diluído em diluidor LPDG acrescido de 4% de gema de ovo (LPDG-GO), 3) diluído em diluidor LPDG acrescido de 4% de glicerol (LPDG-G) e 4) diluído em

diluidor LPDG acrescido de 4% de gema de ovo e 4% de glicerol (LPDG-GOG). Após 24 e 48 horas de armazenamento a 5°C, as menores médias de motilidade progressiva foram observadas no tratamento 2 (LPDG-GO). Às 48 horas de armazenamento, a motilidade progressiva foi superior para o tratamento contendo apenas o glicerol (LPDG-G). Entretanto, adição de glicerol ao diluidor seminal, embora não tenha afetado a motilidade espermática, afetou negativamente a fertilidade.

Assim, em um segundo experimento, a fertilidade por ciclo, baseada na taxa de recuperação embrionária sete dias após a ovulação, foi de 50% (12/24) para as éguas inseminadas com sêmen diluído em diluidor a base de leite desnatado-glicose, 17% (4/24) para às inseminadas com sêmen submetido à remoção do plasma seminal, diluído no mesmo diluidor anterior acrescido de 4% de gema de ovo e de 13% (3/24) para éguas inseminadas com diluidor acrescido de 4% de glicerol (Bedford et al., 1995).

O aumento das concentrações de glicerol (0; 2,2; 3,5; e 4,8%) no diluidor utilizado para o resfriamento do sêmen equino resultou em queda progressiva da taxa de concepção em éguas (87, 53, 53 e 13%; $p < 0,01$; Vidament et al., 2005).

Com base nos resultados de literatura, observa-se que a adição de crioprotetores permeantes aos diluidores para resfriamento do sêmen equino se mostra prejudicial a fertilidade obtida, sendo sua utilização restrita ao processo de congelamento do sêmen.

Com raras exceções, as células de mamíferos são incapazes de sobreviver ao congelamento a temperaturas ao redor de -20°C, quando suspensas em fluidos teciduais ou soluções salinas. (Mazur, 1980). Assim, os crioprotetores permeantes são essenciais para a sobrevivência durante o processo de criopreservação, podendo, entretanto, em altas concentrações, terem efeitos adversos sobre as células (Fahy, 1986). Por isso, deve-se estabelecer um equilíbrio entre a

concentração mínima necessária para conferir proteção às células durante o processo de criopreservação, e a concentração máxima que não exerça efeitos tóxicos sobre as mesmas (Amann e Pickett, 1987; Graham, 1996).

Apesar de o glicerol ser o crioprotetor mais utilizado para a criopreservação do sêmen de diversas espécies domésticas e selvagens tem apresentado alta toxicidade. Seus efeitos negativos foram observados não somente sobre a motilidade espermática pós-descongelamento, mas também na fertilidade das fêmeas inseminadas. Efeito contraceptivo foi atribuído ao glicerol nas espécies equídeas (Bedford et al., 1995; Vidament et al., 2005, 2009), embora tenha sido mais pronunciado na espécie asinina (Vidament et al., 2009), tanto para o sêmen resfriado quanto para o congelado.

Hammerstedt e Graham (1992) relataram efeitos nocivos do glicerol sobre as células espermáticas, provavelmente resultantes de mudanças no citoplasma ocasionadas pelo aumento da viscosidade intracelular, decorrente da presença deste crioprotetor, que, por sua vez, altera a polimerização da tubulina e a associação dos microtúbulos. Outros efeitos adversos, tais como mudanças no balanço bioenergético, alteração da membrana plasmática e mudanças no glicocálix têm sido atribuídas ao glicerol.

Para o desenvolvimento de um banco de sêmen, envolvendo jumentos da raça Poitou, Trimeche et al. (1998) utilizaram um diluidor contendo 10% de gema de ovo de codorna, 80mM de glutamina e 4% de glicerol para o congelamento do sêmen. Observaram que o diluidor possibilitou motilidade total e progressiva aceitáveis, bem como preservou a integridade das membranas espermáticas, nuclear e acrossomal. A glutamina pareceu exercer efeito crioprotetor adicional ao glicerol. Entretanto, quando da utilização deste sêmen para a inseminação de jumentas da mesma raça, gestações só foram obtidas quando o sêmen foi diluído em diluidor a base

de leite, após o descongelamento, previamente à inseminação.

A proteína canal Aquaporina 7, presente na membrana espermática de diferentes espécies, têm sido incriminada como possível rota de penetração do glicerol para o meio intracelular. A presença e a quantidade desta proteína explicariam, em parte, as diferenças entre espécies quando da utilização do glicerol como crioprotetor (Curry, 2000). Assim, Dalmau (2003) e Castejón (2005) observaram melhores resultados, quanto à criopreservação das células espermáticas de jumentos, quando a concentração de glicerol não excedeu os 2,5%.

Estudos mais recentes têm sido desenvolvidos com a utilização de diversos crioprotetores para o sêmen equino, sendo que as amidas, associadas ou não ao glicerol, apontaram para resultados mais favoráveis (Alvarenga et al., 2005; Snoeck et al., 2007). Entretanto para o sêmen asinino os resultados ainda são conflitantes (Dalmau, 2003; Alvaréz et al., 2004).

Ao trabalhar com o congelamento do sêmen de jumentos da raça Zamorano-Leonés, Dalmau (2003) observou que os tratamentos envolvendo o etilenoglicol, resultaram em menor porcentagem de células espermáticas apresentando motilidade total e progressiva, comparados aos que utilizaram o glicerol. Já Alvaréz et al. (2004) observaram superioridade da utilização da dimetil formamida como crioprotetor em relação ao glicerol, quanto à manutenção da motilidade e integridade das membranas plasmáticas e acrossomal de espermatozóides asininos criopreservados.

No mesmo sentido, Oliveira (2005) comparou a associação entre diferentes crioprotetores para o congelamento de sêmen asinino, a saber: dimetilsulfóxido (DMSO), dimetil formamida (DF), dimetilacetamida (DA) e glicerol (GL), na composição dos diluidores utilizados para o congelamento de sêmen asinino. Os tratamentos foram: M1 (2% DMSO + 2% DF), M2 (3% DF), M3 (2% DA

+ 2% GL), M4 (3% DA), M5 (3% GL + 2% DF) e M6 (3% DMSO % + 2% GL). Como pontos finais, avaliou-se as motilidades total e progressiva, que variaram de 61,8 a 69,4% e 36,5 a 46,5%, respectivamente, bem como a porcentagem de células espermáticas com membrana íntegra, que variou 41,1 a 48,6%. Para estes parâmetros, não se observou diferenças ($p>0,05$) entre os tratamentos. No teste de fertilidade não foram obtidas gestações após a inseminação de 56 jumentas. Entretanto, ao utilizar apenas o diluidor M6, obteve-se uma taxa de concepção de 40% após a inseminação de 10 éguas com sêmen asinino congelado (Oliveira, 2005).

Os efeitos do glicerol sobre a fertilidade de jumentas inseminadas com sêmen asinino fresco diluído, diluído e resfriado ou congelado foram estudados por Vidament et al. (2005). Para tal, foram realizados três experimentos: no primeiro trabalho, compararam a fertilidade de jumentas inseminadas com sêmen asinino submetido à quatro tratamentos diferentes antes das inseminações: I) diluição em leite UHT; II) centrifugação, ressuspensão em leite UHT e resfriamento à 4°C por 1h 15min; III) centrifugação, ressuspensão em diluidor INRA82® acrescido de 2% de gema de ovo (INRA82-Y) e resfriamento à 4°C por 1h 15min e IV) centrifugação, ressuspensão em diluidor INRA82-Y + 2,5% de glicerol e resfriamento a 4°C por 1h 15min. As taxas de concepção por ciclo foram de 85,71% (6/7); 77,78% (7/9); 62,5% (5/8) e 0% (0/8) para os tratamentos na ordem em que foram descritos, podendo-se observar os efeitos devastadores do glicerol sobre a fertilidade do sêmen utilizado em jumentas.

No segundo experimento, avaliou-se o efeito do crioprotetor utilizado sobre a taxa de concepção em fêmeas asininas inseminadas com sêmen centrifugado e diluído em diluidor INRA-Y: I) sem adição de crioprotetor; II) +2,5% de glicerol; III) +2,5% de dimetilformamida ou IV) +2,5% de etilenoglicol, sendo as amostras submetidas, posteriormente, ao resfriamento a 4°C por 1h 15min. As taxas de concepção por ciclo foram

de 63,64% (7/11); 8,3% (1/12); 66,67% (8/12) e 45,45% (5/11) para os tratamentos I, II, III e IV, respectivamente, demonstrando-se que, de forma contrária ao glicerol, a dimetilformamida e o etilenoglicol não interferiram com a fertilidade do sêmen resfriado armazenado por um curto período.

No terceiro experimento, o congelamento do sêmen asinino foi realizado utilizando-se o diluidor INRA82-Y acrescido de 2,5% de glicerol (TI) ou 2,5% de dimetilformamida (TII). A motilidade pós-descongelamento não diferiu entre os tratamentos (54 e 47%, respectivamente). Entretanto, diferentemente do que se observou no sêmen resfriado, a dimetilformamida resultou em baixa taxa de concepção (10,53%) quando da inseminação de jumentas, que não diferiu da observada para o sêmen congelado, na presença de glicerol (0%).

Em estudo posterior, Vidament et al. (2009) compararam a fertilidade de fêmeas das espécies equina e asinina, inseminadas com sêmen de jumentos. A inseminação das fêmeas com sêmen asinino diluído em leite UHT e resfriado a 4°C, resultou em taxas de concepção, ao primeiro ciclo, similares para as duas espécies (45%). Já a utilização do sêmen congelado contendo 2,2% de glicerol resultou em diferentes taxas de concepção para éguas e jumentas (36% e 11%, respectivamente), apesar da motilidade similar pós-descongelamento, do sêmen utilizado para inseminar as éguas ou jumentas (56%). Esta discrepância entre boa motilidade e baixa fertilidade observada para o sêmen congelado de jumentos, encontra suporte no trabalho conduzido por Oliveira (2005). Assim, ao utilizar diferentes combinações de crioprotetores, demonstrou que o glicerol é efetivo para a manutenção da motilidade espermática pós-descongelamento. Entretanto, parece ser prejudicial à fertilidade, principalmente quando da inseminação de fêmeas asininas.

2.1.1.5.3. Outros aditivos

O armazenamento do sêmen diluído por longos períodos, mesmo que à baixas temperaturas, pode resultar em crescimento bacteriano na ausência de antibióticos (Burns et al., 1975). Dentre os antibióticos mais utilizados nos diluidores seminais destacam-se a penicilina G potássica, a estreptomicina, a amicacina, a polimixina B e a kanamicina (Jasko et al., 1993).

Varner et al. (1993) compararam o efeito da adição de penicilina G (1000UI/mL) e/ou sulfato de amicacina (1000µg/mL) a um diluidor a base de leite sobre a viabilidade espermática de garanhões. Após 24 horas de armazenamento, a adição dos dois antibióticos foi benéfica, sendo que o sêmen diluído na presença de penicilina e amicacina apresentou uma viabilidade espermática superior à do sêmen diluído, na ausência de antibióticos.

Ao utilizar um diluidor a base de gema, Beker (1997) avaliou os efeitos da adição de penicilina G potássica e sulfato de estreptomicina sobre as características físicas do sêmen asinino resfriado. Na maioria das observações, a motilidade total foi superior no diluidor sem antibiótico, no transcorrer da preservação do sêmen, desde a avaliação feita pós-diluição até o quarto dia de armazenamento. Similarmente ao que observou-se para a motilidade total, a motilidade progressiva apresentou resultados superiores nas amostras armazenadas na ausência de antibiótico, dos dias um a quatro pós-coleta.

Outras substâncias têm sido adicionadas aos diluidores a base de leite, visando preservar as características espermáticas durante um período de armazenamento maior. Neste sentido, Heiskanen et al. (1987) verificaram que a adição de Hepes e teofilina ao diluidor a base de leite em pó desnatado-glicose, proposto por Kenney et al. (1975), beneficiou o armazenamento do sêmen equino por longos períodos. O Hepes proporcionou a manutenção de um pH constante durante a estocagem, enquanto a teofilina exerceu efeito estimulatório sobre as células espermáticas.

Neste experimento, obteve-se taxas de concepção, ao primeiro ciclo, de 82% e 70%, respectivamente, para o sêmen diluído no diluidor de Kenney original ou suplementado com Hepes e teofilina, e armazenado por 24 horas. Posteriormente, utilizando o mesmo diluidor de Kenney modificado pela adição de Hepes e teofilina, Heiskanen et al. (1994) obtiveram uma viabilidade espermática por até 80 horas, obtendo uma taxa de concepção por ciclo de 65%, quando da utilização do sêmen armazenado por 70 - 80 horas a 5-7°C.

A baixa relação entre colesterol: fosfolípidos na membrana espermática dos equídeos tem sido incriminada como determinante de sua maior sensibilidade aos processos de criopreservação (Amann e Pickett, 1987). Diante disso, vários estudos foram conduzidos na tentativa de se aumentar a relação colesterol: fosfolípidos, quando incorporou-se colesterol à membrana espermática de equídeos utilizando a ciclodextrina como carreador.

A ciclodextrina é um oligossacarídeo macrocíclico, solúvel em água, que contém um centro hidrofóbico capaz de acomodar substâncias apolares, formando complexos de inclusão e aumentando sua solubilidade em meios aquosos (Pitha et al., 1988). As β -ciclodextrinas têm afinidade preferencial por esteróides quando comparados a outros lipídios e, devido à sua especificidade relativamente alta pelo colesterol, tem sido sugerido que estes compostos podem ser efetivos na modificação do metabolismo do colesterol (Yancey et al., 1996).

O uso de ciclodextrinas para a incorporação de colesterol às membranas plasmáticas foi relatado primeiramente por Klein et al. (1995), utilizando células miométriais. A habilidade da metil- β -ciclodextrina e seu complexo de inclusão com colesterol em alterar o conteúdo desse esteróide na membrana plasmática, se deve à formação de uma nova reserva contendo colesterol na fase aquosa. Esta reserva é rapidamente envolvida num equilíbrio entre o colesterol ligado à membrana e o colesterol complexado com a

ciclodextrina. A incubação das células com a ciclodextrina isoladamente provoca a retirada do colesterol da membrana, estando o equilíbrio voltado para o complexo de inclusão (Atger et al., 1997). Inversamente, a incubação da membrana plasmática desprovida de colesterol com o complexo de inclusão leva à restauração do colesterol da membrana (Klein et al., 1995). Na célula espermática demonstrou-se que o colesterol é incorporado em todas as membranas, localizando-se, em maior concentração, nas membranas acrossomal e mitocondrial (Moore et al., 2005a).

A incubação do sêmen com complexos colesterol-ciclodextrina (CLC) tem resultado em melhor viabilidade espermática pós-congelamento/resfriamento em diferentes espécies domésticas. Estudos envolvendo o congelamento do sêmen de garanhões demonstraram uma melhora quanto à viabilidade espermática pós-descongelamento, quando realizou-se a incorporação do colesterol à membrana espermática, carreado pela ciclodextrina (Combes et al., 2000). Além disso, durante o resfriamento a 5°C, a incorporação de colesterol teve efeitos positivos. Os espermatozóides equinos tratados com CLC, submetidos à centrifugação (C) ou não (NC), exibiram melhores parâmetros de motilidade que os não tratados às 24, 48 e 72 horas de armazenamento, bem como maior porcentagem de espermatozóides com membrana intacta às 48 horas (40% e 45% contra 23 e 22%) e 72 horas (33 e 30% contra 17 e 15%) (Torres et al., 2006).

Ao utilizarem garanhões cujo sêmen apresentava baixa tolerância à criopreservação, Zahn et al. (2002) observaram aumento da motilidade e da porcentagem de espermatozóides com membranas intactas pós-descongelamento quando da inclusão de 0,125mM de CLC ao meio diluidor; entretanto, este procedimento resultou em queda da fertilidade quando comparada à do grupo controle (25% x 75%).

Na espécie asinina, a incubação do sêmen com 1,5 ou 2,0 mg de CLC para cada 120×10^6 de espermatozoides, previamente ao resfriamento, resultou em melhoria ($P < 0,05$) dos parâmetros de motilidade total, progressiva e integridade da membrana plasmática (Rozas, 2005), embora as diferentes concentrações de CLC's fossem similares quanto aos parâmetros espermáticos (Tabela 2).

Em jumentos da raça Zamorano- Leonés, Álvarez et al. (2006) demonstraram que a

incubação do sêmen com CLC pré-congelamento aumentou a motilidade e a viabilidade espermática pós-descongelamento, em relação ao grupo não tratado. No mesmo estudo, observaram que a porcentagem de espermatozoides vivos com acrossoma intacto foi maior ($p < 0,05$) para os grupos tratados com 2 e 2,5mg de complexo colesterol-ciclodextrina, em relação ao grupo controle.

Tabela 2. Motilidade e integridade da membrana plasmática em função da concentração de complexo colesterol-ciclodextrina (CLC; Rozas, 2005).

CLC	MT (%)	MP (%)	EMPI (%)
Controle (0 mg)	$21,90 \pm 4,87^b$	$15,64 \pm 4,89^b$	$12,56 \pm 5,72^b$
1,5 mg	$45,83 \pm 4,87^a$	$36,29 \pm 4,89^a$	$31,35 \pm 5,72^a$
2,0 mg	$51,12 \pm 4,87^a$	$40,55 \pm 4,89^a$	$31,48 \pm 5,79^a$

CLC: concentração CLC (mg / 120×10^6 spz); MT: motilidade total; MP: motilidade progressiva; EMPI: espermatozoides com a membrana plasmática íntegra.

Ao avaliarem diferentes protocolos para o congelamento do sêmen asinino, Jepsen et al. (2010) observaram que a inclusão de 20% de gema de ovo ao meio diluidor resultou em prejuízos à fertilidade. Quando comparou os tratamentos: I) diluidor contendo 20% de gema de ovo; II) diluidor contendo 5% de gema de ovo e III) diluidor contendo 20% de gema de ovo + 60mM de β metil-ciclodextrina, observou-se taxas de concepção de 6,3% (1/15); 46,5% (20/43) e 58,3%(14/24) em éguas. Diante da capacidade da ciclodextrina em se ligar ao colesterol, os autores concluíram que, neste experimento, este molécula foi capaz de sequestrar colesterol suficiente para inibir os efeitos das altas concentrações de gema de ovo (possível fonte de colesterol), sobre a capacidade fertilizante dos espermatozoides asininos pós-descongelamento.

Alguns estudos têm demonstrado que o conteúdo elevado de colesterol pode ser prejudicial à célula espermática (Parks et al., 1981), contribuindo para a infertilidade do sêmen de humanos e garanhões (Sugkraroek et al., 1991; Brinsko et al., 2005). Pretende-se que a mesma possa induzir um estado de decapacitação inibindo a reação acrossômica

(Davis, 1978). Além disso, publicações anteriores trazem evidências de que a capacidade fecundante do espermatozoide é influenciada pelos teores de colesterol na membrana plasmática da célula espermática, sendo a sua fusão inibida pelo colesterol (Davis, 1980).

Avaliando as características espermáticas de garanhões com fertilidade normal ou com infertilidade de natureza desconhecida, Brinsko et al. (2005) observaram que as motilidades total e progressiva, bem como a morfologia espermática não diferiram ($p > 0,05$) entre os grupos. Entretanto, após a incubação dos espermatozoides com cálcio ionóforo, a taxa de ocorrência de reação acrossomal foi de $96 \pm 3\%$ para os oriundos dos garanhões férteis, sendo de apenas $3 \pm 2\%$ para os espermatozoides dos garanhões inférteis. Os autores relacionaram este achado à maior ($p = 0,01$) relação molar de colesterol: fosfolípidos observada para os espermatozoides dos garanhões inférteis ($1,51 \pm 0,34$) em relação aos dos garanhões férteis ($0,89 \pm 0,27$).

Assim, tais estudos corroboram com os achados de Zahn et al. (2002) e Jepsen et al.

(2010), quando o excesso de colesterol, agregado à membrana plasmática, foi prejudicial à capacidade fecundante dos espermatozoides de equídeos submetidos ao congelamento.

2.1.1.6. Efeito da coleta fracionada, da centrifugação com retirada do plasma seminal e da taxa de diluição sobre as características de motilidade espermática e taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen equídeo resfriado e/ou transportado.

O resfriamento, armazenamento e transporte do sêmen são estratégias reprodutivas importantes para um grande número de espécies. Apesar da possível participação dos constituintes do plasma seminal em diversos eventos fisiológicos, a sua presença durante o processo de resfriamento e criopreservação parece deletéria ao sêmen bovino (Martinus et al., 1991; Bergeron et al., 2004), equino (Jasko et al., 1992a; Brinsko et al., 2000; Way et al., 2000; Moore et al., 2005b) e asinino (Dalmau, 2003; Miró et al., 2009).

Vários autores relataram aumento da motilidade e da sobrevivência espermática após a remoção do plasma seminal. Também proteínas do plasma seminal foram identificadas como causa de redução da motilidade e sobrevivência espermática em suínos (Strzezek et al., 1992), bovinos (Wishwanath et al., 1992), caprinos (Pellicer-Rubio e Combarous, 1998) e equinos (Carver e Ball, 2002). Essas proteínas entram em contato com os espermatozoides durante a ejaculação, interagem com a membrana espermática e são capazes de influenciar diversas características, incluindo a motilidade espermática (Braun et al., 1994). Entretanto, os fatores do plasma seminal responsáveis por causar danos durante o armazenamento do sêmen permanecem desconhecidos.

Uma das propostas para a baixa viabilidade dos espermatozoides equinos armazenados seria o acúmulo de subprodutos do metabolismo de proteínas do sêmen e dos

efeitos desfavoráveis das secreções das glândulas sexuais acessórias impedindo o início da anabiose (Milovanov et al., 1939, citado por Berliner et al., 1942). Tem sido observado que, na espécie bovina, o efluxo de colesterol causado pelas proteínas do plasma seminal é local e concentração dependente. Além disso, sabe-se que os espermatozoides de espécies com menor proporção de colesterol na membrana espermática são menos tolerantes ao choque pelo frio (Darin-Bennett e White, 1977; Drobnis et al., 1993). Salienta-se ainda, um aumento da tolerância espermática à criopreservação após a inclusão de colesterol nas membranas de espermatozoides equinos, bovinos e asininos (Purdy e Graham, 2004; Moore et al., 2005a, Álvarez et al., 2006). Assim, a exposição contínua dos espermatozoides às proteínas contidas no plasma seminal, como ocorre durante o armazenamento do sêmen, causa um efluxo contínuo de colesterol das membranas, resultando em uma maior sensibilidade dos espermatozoides ao armazenamento, seja o mesmo realizado no estado líquido ou congelado (Bergeron et al., 2005). Assim, as proteínas do plasma seminal atuam de forma ambígua, sendo necessárias ou prejudiciais à fertilidade espermática, dependendo do local e da duração da exposição (Bergeron e Manjunath, 2006).

Em equídeos, os efeitos do plasma seminal durante o armazenamento do sêmen podem ser minimizados utilizando três processos: utilização da colheita fracionada (Tischner et al., 1974; Varner et al., 1987; Mello, 1998; Mello et al., 2000), quando obtém-se apenas a fração rica em espermatozoides; centrifugação do sêmen com eliminação total ou parcial do plasma seminal, associada a ressuspensão dos espermatozoides em diluidor apropriado (Pickett et al., 1975; Padilla e Foote, 1991; Jasko et al., 1992a; Brinsko et al., 2000; Moore et al., 2005b) e, finalmente, a utilização de uma taxa de diluição ideal, capaz de diminuir os efeitos deletérios do plasma seminal e de subprodutos do metabolismo, sobre as células espermáticas (Palmer, 1984; Jasko et al., 1991).

Apesar de ser um procedimento necessário para o aumento da concentração espermática quando se coleta o ejaculado total, a centrifugação resulta em redução da motilidade (Pickett et al., 1975; Martin et al., 1979; Loomis et al., 1983; Cochran et al., 1984). Os efeitos da centrifugação podem ser influenciados pela força centrífuga, pela diluição do sêmen pré-centrifugação, pela concentração de plasma remanescente no sêmen centrifugado, e pelo tipo de diluidor utilizado durante e/ou após a centrifugação (Pickett et al., 1975, Martin et al., 1979).

Embora a centrifugação possa ter efeitos negativos sobre a atividade espermática (McLeod e MacGee, 1950), vários estudos têm apresentado resultados favoráveis acompanhando a sua utilização. Assim, Jasko et al. (1991) relataram que a diluição do ejaculado total a uma concentração final de 50×10^6 espermatozoides/mL foi inferior quanto à manutenção da motilidade espermática em relação a um tratamento utilizando a centrifugação do sêmen e remoção do plasma seminal, previamente à diluição e resfriamento do sêmen. Além disso, para ejaculados com baixa concentração, a remoção do plasma seminal por meio da centrifugação pode ser benéfica para que se possa atingir uma concentração espermática ideal após a diluição do sêmen, uma vez que altas taxas de diluição do sêmen foram associadas à redução da fertilidade (Jasko et al., 1992b).

Em 1986, DeVries utilizou a metodologia de diluição e centrifugação do sêmen, com posterior resuspensão em diluidor de Dimitropoulos, antes do resfriamento a 5°C. Ao utilizar uma dose inseminante contendo 500×10^6 espermatozoides móveis, obteve uma taxa de concepção de 76%, sendo o tempo máximo de armazenamento de 16 horas. Varner et al. (1987) observaram que, após a diluição em diluidor a base de leite desnatado-glicose e armazenamento a 25°C, a motilidade espermática foi melhor preservada ($p < 0,05$) na fração rica em espermatozoides do que no ejaculado total, quando de

avaliações realizadas às 12 e 24 horas após a coleta do sêmen.

Em equinos, Raphael (2007) avaliou o efeito da remoção do plasma seminal através da centrifugação sobre as características de motilidade, integridade e peroxidação lipídica da membrana de espermatozoides submetidos ao resfriamento a 5°C por até 72 horas. Assim, valores médios superiores para motilidade total e progressiva, integridade das membranas plasmática e acrossomal, e potencial de membrana mitocondrial foram observadas para o sêmen armazenado após centrifugação. A peroxidação lipídica, por sua vez, não foi afetada pelo processo de centrifugação.

Os resultados obtidos por Barrier-Battut et al. (2010) demonstraram que a remoção do plasma seminal previamente ao resfriamento do sêmen equino, contribuiu para a estabilização da membrana espermática. Tal mudança aumentou a sua resistência a choques hiposmóticos e reduziu sua responsividade à indução farmacológica de reação acrossômica. Entretanto, os efeitos desta estabilização sobre a fertilidade requer investigações futuras.

Segundo Maxwell e Johnson (1999), um percentual mínimo de proteínas deve estar presente no plasma seminal para que estas se adsorvam na membrana plasmática de forma a reverter as lesões provocadas pelo estresse térmico durante o congelamento. Os resultados de Kankofer et al. (2005) sugerem que, certa quantidade de plasma seminal deve ser mantida no ejaculado, no momento da sua diluição, para que se tenha atividade de algumas enzimas antioxidantes.

Neste sentido, Schmitt et al. (2003) avaliaram o efeito de diferentes concentrações de plasma seminal (0; 2,5; 5 e 10%) sobre as características espermáticas do sêmen de garanhões, diluído em diluidores a base de leite e armazenado a 4°C. Assim, observaram que a concentração de plasma seminal não afetou as motilidades espermáticas total e progressiva, bem como a funcionalidade da

membrana. À zero e às 24 horas de armazenamento, a maior porcentagem de espermatozóides com membrana íntegra foi observada no sêmen que continha 2,5% de plasma seminal. Já às 48 e às 72 horas de armazenamento, o pior resultado para este parâmetro esteve associado às amostras que continham 10% de plasma seminal, sendo que os demais tratamentos não diferiram entre si. Rigby et al. (2001) ressuspenderam o sêmen centrifugado em diluidor contendo zero ou 20% de plasma seminal e obtiveram uma taxa de concepção similar nos dois tratamentos. Katila et al. (2004) obtiveram também resultados semelhantes, sendo a taxa de concepção de exatamente 62%, para os dois tratamentos, quando manteve-se o plasma seminal ou quando o mesmo foi totalmente removido.

Moore et al. (2005b) verificaram que a incubação por duas a seis horas com 20% de plasma seminal foi deletéria à viabilidade espermática em relação à preservação com 5%. Love et al. (2005) observaram melhor preservação da motilidade espermática e da integridade do DNA, na ausência de plasma seminal, quando o ejaculado foi diluído e resfriado por 48 horas.

A variação individual na composição do plasma seminal parece ser determinante no que se refere aos seus efeitos sobre as células espermáticas, durante o armazenamento do sêmen. A adição de plasma seminal de garanhões com boa congelabilidade ao sêmen de garanhões com baixa motilidade espermática após o congelamento/descongelamento, aumentou significativamente a motilidade progressiva do segundo grupo (Aurich et al., 1996). A integridade de membrana foi melhor preservada. Além disso, a adição de plasma seminal de garanhões apresentando baixa congelabilidade reduziu a motilidade progressiva dos garanhões com boa motilidade após o congelamento/descongelamento. Brinsko et al. (2000) observaram vantagens da remoção do plasma seminal por centrifugação apenas naqueles garanhões com baixa resistência à criopreservação. Os componentes do plasma

seminal responsáveis pela boa congelabilidade do sêmen permanecem desconhecidos, sendo que as diferenças individuais no conteúdo destas substâncias podem explicar as diferentes sensibilidades dos espermatozóides de garanhões ao congelamento (Aurich et al., 1996).

Buscando avaliar a influência do plasma seminal sobre a motilidade espermática e funcionalidade da membrana plasmática de espermatozóides equinos resfriados, Mattos et al. (2003) utilizaram quatro garanhões, sendo que dois apresentaram alta qualidade espermática e os outros dois, baixa qualidade espermática. Assim, verificaram que a adição de 2,5% de plasma seminal proveniente dos garanhões que apresentaram alta qualidade espermática melhorou a motilidade dos garanhões apresentando baixa qualidade espermática durante o armazenamento do sêmen.

Trein et al. (2008) avaliaram o efeito da adição do plasma seminal sobre os espermatozóides equinos selecionados por gradiente de Percoll e estocados a 4°C. Com base nas características físicas e morfológicas do sêmen, utilizaram dois garanhões de alta e dois de baixa qualidade seminal. Diferentemente do que observou-se anteriormente (Aurich et al., 1996 e Mattos et al., 2003), a adição de plasma obtido de garanhões apresentando boa ou má qualidade seminal aos espermatozóides selecionados não afetou os parâmetros seminais durante o resfriamento. Concentrações de plasma seminal inferiores a 2% aumentaram a funcionalidade da membrana ($p < 0,05$), embora não tenham influenciado a motilidade e integridade das membranas espermáticas. A ausência de plasma seminal resultou em melhor integridade das membranas plasmática e acrossomal.

Parece haver uma interação entre a composição do diluidor utilizado e a presença do plasma seminal sobre as características físicas do sêmen. Buscando estabelecer esta relação, Jasko et al. (1992a) realizaram uma série de experimentos, tendo como ponto final

a avaliação da motilidade do sêmen equino resfriado. No primeiro experimento, observaram que a remoção do plasma seminal por centrifugação, acompanhada pela ressuspensão em diluidor a base de leite em pó desnatado-glicose (LPDG) resultou em queda das motilidades espermáticas total e progressiva, quando comparadas às das células espermáticas diluídas sem remoção do plasma seminal. Entretanto, após 72 horas de armazenamento, os espermatozóides diluídos em diluidor LPDG contendo 5, 10 ou 20% de plasma seminal mantiveram motilidades total e progressiva similares às do sêmen diluído, sem remoção do plasma seminal. Tais resultados diferem dos obtidos anteriormente pelo mesmo grupo de pesquisadores (Jasko et al., 1991), quando a remoção do plasma seminal foi benéfica para a manutenção da motilidade espermática no sêmen resfriado. Entretanto, deve-se salientar que no trabalho anterior (1991), o sêmen foi armazenado por apenas 24 horas, tempo que pode ter sido insuficiente para que as diferenças de motilidade, entre o sêmen centrifugado ou não, pudessem ter sido observadas.

No segundo experimento, avaliaram o efeito da adição da gema de ovo clarificada ao diluidor LPDG. Ainda utilizando sêmen equino centrifugado observaram motilidades total e progressiva superiores no sêmen diluído em diluidor contendo gema de ovo, em relação ao diluidor sem sua adição. A concentração de gema de ovo (4, 8 ou 16%) não influenciou as características físicas do sêmen (Jasko et al., 1992a). No terceiro experimento, os autores buscaram avaliar os efeitos da combinação entre plasma seminal e gema de ovo, sobre as características de motilidade espermática do sêmen equino. Da mesma forma como observou-se no experimento 1, após 48 horas de armazenamento à 5°C, o sêmen diluído em diluidor LPDG contendo 5% de plasma seminal apresentou maior motilidade espermática (35%) que o diluído e resfriado na ausência de plasma seminal (16%). Esta diferença se manteve até às 72 horas de armazenamento. A adição de 4% de gema de ovo ao sêmen diluído, sem plasma seminal,

respondeu por maiores percentuais de motilidade total e progressiva já às 12 horas de armazenamento, em relação ao sêmen diluído sem a remoção do plasma seminal. Para o sêmen diluído em diluidor LPDG contendo 4% de gema de ovo, não se observou efeito aditivo da manutenção de 5% de plasma seminal, em relação ao sêmen diluído em LPDG, isoladamente. Assim, a remoção do plasma seminal parece ser benéfica quando da utilização de diluidores contendo gema de ovo para a preservação do sêmen equino. Os autores concluíram que, quando da utilização de diluidores a base de leite, a remoção do plasma seminal, antes do resfriamento, parece ser desnecessária (Jasko et al., 1992a).

Alguns trabalhos têm demonstrado que a remoção da maior parte do plasma seminal por centrifugação foi benéfica quando da presença de diluidores a base de leite desnatado-glicose, suplementados com soluções salinas como Tyrode ou PBS, quando houve maior motilidade espermática durante o armazenamento, aditivamente à manutenção de melhor integridade do DNA espermático para alguns ganhos (Love et al., 2005; Webb e Arns, 2004).

Webb et al.(2009) avaliaram os efeitos da remoção do plasma seminal e da diluição do sêmen nos diluidores de leite desnatado-glicose, INRA96® e VMD-Z®, sobre as motilidades total e progressiva, no sêmen equino armazenado por até 72 horas. Desconsiderando-se o efeito dos diluidores, a remoção do plasma seminal não resultou em incremento das motilidades total (MT) e progressiva (MP); entretanto, os maiores valores de MT e MP foram observados nas amostras submetidas à centrifugação e posterior diluição no diluidor INRA96®.

Na espécie asinina, Ferreira et al. (1991), avaliaram o efeito da centrifugação sobre a motilidade e vigor espermáticos de três jumentos. Sendo a diluição final ajustada para uma concentração de 25×10^6 espermatozóides/mL, o sêmen diluído em diluidor a base de LPDG, apresentou uma

motilidade total inferior a 10%, às 120 e 168 horas, para o sêmen não centrifugado e centrifugado, respectivamente. Independentemente do processamento, o vigor não diferiu entre os tratamentos, sendo inferior a 1 (escala de 0 a 5) às 48 horas de armazenamento. Quando o sêmen foi diluído em lactose-gema de ovo e avaliado às 96 horas de armazenamento, a motilidade total foi inferior a 10% para o sêmen centrifugado, enquanto que, para o sêmen não centrifugado, manteve-se acima de 10% até às 168 horas de armazenamento. Assim, o procedimento de centrifugação, com retirada do plasma seminal, não foi benéfico à preservação do sêmen de jumentos armazenado a 5°C, independentemente do diluidor utilizado.

Contrariando os achados anteriores, Serres et al. (2002) observaram maiores motilidades total e progressiva, acompanhadas por melhor integridade das membranas, para as amostras de sêmen de jumentos da raça Zamorano-Leonés centrifugadas, em relação às não centrifugadas e submetidas ao resfriamento por até 96 horas.

O efeito da presença do plasma seminal sobre os espermatozoides resfriados de asininos, foi um dos objetivos de pesquisa realizada por Dalmau (2003). Ao compararem os espermatozoides oriundos do ejaculado total, submetido ou não à centrifugação, com os oriundos da fração rica, observaram maior viabilidade espermática nas amostras armazenadas na ausência de plasma seminal, ao desconsiderarem o efeito do diluidor. Motilidade progressiva igual ou superior a 30% foi mantida por um tempo médio de 37,05 horas para o sêmen centrifugado, valor superior às 27,90 horas observadas para a fração rica, que por sua vez superou às 22,30 horas, obtidas quando utilizou-se o ejaculado total.

Corroborando com os achados de Serres et al. (2002) e Dalmau (2003), Miró et al. (2009) observaram motilidades superiores, após 24 e 48 horas de armazenamento do sêmen asinino a 5°C, nas amostras centrifugadas ou submetidas à uma maior taxa de diluição

(1:10). Após 72 horas de estocagem, somente as amostras centrifugadas apresentaram motilidade espermática superior a 25%. Diante destes resultados, os autores concluíram que a eliminação do plasma seminal aumentou a sobrevivência e a manutenção da motilidade espermática.

Durante o processamento do sêmen asinino destinado ao congelamento, Canisso (2008) relataram redução da motilidade espermática após os procedimentos de centrifugação, rediluição e resfriamento do sêmen, apesar dos altos valores observados. Também Rota et al. (2008) avaliaram o efeito da centrifugação e da presença do plasma seminal sobre a manutenção das características espermáticas do sêmen asinino resfriado. Para tal, utilizaram três tratamentos, descritos a seguir: diluição em meio INRA82®, ao qual adicionou-se 2% de gema de ovo (T-Di); centrifugação sem remoção do plasma seminal e diluição no meio INRA82®, acrescido de 2% de gema de ovo (T-Ce) ou centrifugação com remoção do plasma seminal previamente à diluição em meio INRA82® ao qual adicionou-se 2% de gema de ovo (T-Re). Em todos os tratamentos utilizou-se uma concentração espermática, após a diluição, de 20×10^6 espermatozoides/mL. Às 24 horas de armazenamento, o sêmen submetido à centrifugação, acompanhada pela remoção do plasma seminal (T-Re), apresentou os menores valores para velocidade média e velocidade em trajetória curvilínea, quando comparado às dos demais tratamentos. Por outro lado, a retilinearidade, resultado da equação velocidade em trajetória curvilínea/velocidade em linha reta foi superior neste tratamento, caracterizado por uma maior proporção de espermatozoides com motilidade progressiva. Ainda, às 24 horas de armazenamento, observou-se redução na porcentagem de espermatozoides reagindo positivamente ao teste hiposmótico no tratamento T-Re, que se apresentou superior aos demais. Após 48 horas de armazenamento, a proporção de espermatozoides mantendo motilidade progressiva permaneceu superior no

tratamento incluindo remoção do plasma seminal, em relação aos demais. Entretanto, observou-se neste tratamento, uma maior queda na porcentagem de espermatozóides reagindo positivamente no teste hiposmótico. Às 72 horas de armazenamento, a motilidade total foi melhor preservada no sêmen diluído (T-Di) quando comparado ao T-Re. Assim, a remoção do plasma seminal não ofereceu vantagens, quanto à manutenção das características espermáticas, durante a preservação do sêmen asinino *in vitro*.

Quando utilizaram a centrifugação, com remoção do plasma seminal, em um protocolo envolvendo o resfriamento do sêmen de jumentos da raça Martina – Franca, Contri et al. (2010) obtiveram motilidade espermática progressiva superior a 30% por até 120 horas de armazenamento a 5°C, na presença do diluidor INRA96®, e até 48 horas quando utilizou-se o diluidor E-Z- Mixin®.

O efeito da remoção do plasma seminal por centrifugação sobre a eficiência reprodutiva de jumentas inseminadas, com sêmen asinino resfriado, foi estudado por Rozas (2005). Neste experimento, observou-se forte resposta inflamatória ao sêmen resfriado submetido previamente a eliminação do plasma seminal. A utilização do sêmen não centrifugado, diluído em leite desnatado ultrapasteurizado, resultou em melhor taxa de concepção por ciclo (27% contra 21%), sugerindo uma participação do plasma seminal na modulação da resposta inflamatória uterina em jumentas.

Buscando eliminar os efeitos deletérios do plasma seminal sobre as células espermáticas durante o armazenamento do sêmen, bem como os danos causados pela centrifugação, a obtenção da fração rica em espermatozóides do ejaculado, pela coleta fracionada do sêmen, apresenta-se como uma boa alternativa. Em 43,6% do volume, a fração rica contém 73,2% dos espermatozóides totais do ejaculado de garanhões (Kosiniak, 1975; Sieme et al., 2004) e até 94% dos espermatozóides totais em 57,6% do volume do ejaculado de jumentos (Mello, 1998). Além disso, Tischner et al. (1974) relataram a

presença de menor contaminação bacteriana do sêmen quando utilizou-se, para a coleta do sêmen, uma vagina artificial aberta. Diante disto, Tischner e Kosiniak (1992) observaram que 41% dos ejaculados apresentaram-se livres de bactérias, quando da utilização de vagina artificial aberta.

Para se atingir taxas de diluição adequadas, concentrações iniciais de no mínimo 125×10^6 espermatozóides/mL são exigidas. Alguns reprodutores não atingem essa concentração quando da coleta do ejaculado total, tornando necessária a centrifugação do mesmo. Considerando-se os efeitos nocivos da centrifugação, a coleta fracionada surge como melhor opção nestes casos (Lindeberg et al., 1999).

Heiskanen et al. (1994) utilizaram a coleta da fração rica com vagina aberta para a diluição e resfriamento do sêmen equino. Após a coleta, diluíram o sêmen em diluidor a base de leite e o armazenaram por 70 ou 80 horas a 5-7°C, obtendo-se taxas de concepção de 77 e 57%, respectivamente, para inseminações realizadas no máximo 12 horas após a ovulação.

Langkammer (1994) citado por Lindeberg et al. (1999), relataram queda menos acentuada das motilidades total e progressiva após 72 horas de armazenamento à 4°C para os espermatozóides oriundos da fração rica do sêmen de garanhões Puro-Sangue, em comparação aos provenientes do ejaculado total. Os autores registraram, ainda, uma motilidade progressiva de aproximadamente 60% na fração rica após 72 horas de armazenamento.

Além da vagina artificial aberta, proposta por Tischner et al. (1974), pesquisadores Finlandeses desenvolveram um método de coleta automatizado (Equidame®), que permite a separação das frações do ejaculado em diferentes recipientes, com volumes pré-definidos (Lindeberg et al., 1999). Entretanto, a separação em frações pelo Equidame® difere da vagina artificial aberta, uma vez que

a divisão não corresponde aos jatos ejaculados e sim a um volume pré ajustado. Ao utilizarem este sistema automatizado, Lindeberg et al (1999) compararam as características físicas e microbiológicas da fração rica do sêmen de equinos, bem como seu comportamento ao resfriamento, em relação às células espermáticas oriundas do ejaculado total, coletado com vagina artificial (VA) modelo Missouri. A fração rica apresentou um volume médio de 22,1 mL, com uma concentração espermática média de $218,0 \pm 2,58 \times 10^6$ espermatozoides/mL, também superior à do ejaculado total. Após 24 horas de incubação, o número de UFCs no sêmen *in natura* foi maior no ejaculado total, obtido pela VA modelo Missouri, quando comparado ao da fração rica, obtida pelo Equidame®. As motilidades total e progressiva, após 24 e 48 horas de armazenamento, não diferiram entre os tipos de coleta.

Sieme et al. (2004) observaram que a centrifugação da fração rica do sêmen de equinos beneficiou a motilidade progressiva e a integridade das membranas espermáticas pós-descongelamento (41,3% e 49,5%) quando comparadas às da fração rica não centrifugada (35,0% e 43,8%), bem como as associadas ao ejaculado total centrifugado (37,3% e 43,9%). Tais resultados corroboram com os achados de Akcay et al. (2006), quando observou-se que o plasma seminal da fração rica foi mais deletério à motilidade espermática do que o oriundo da fração pobre. Entretanto, durante o resfriamento e armazenamento do sêmen equino a 5°C por 24 horas, Kareskoski et al. (2006) demonstraram que a centrifugação e remoção completa do plasma seminal resultou em decréscimo das motilidades total e progressiva em todas as frações do ejaculado coletadas pelo Equidame®.

Para o sêmen de jumentos, Mello (1998) não obteve vantagens na coleta e diluição da fração rica em espermatozoides em relação ao ejaculado completo, no que diz respeito à manutenção das características físicas do sêmen durante o resfriamento, ao utilizarem

diluidores a base de leite (Kenney et al., 1975) ou gema de ovo (Baken modificado). A diluição do ejaculado total em um diluidor adequado têm sido o principal procedimento utilizado para se reduzir os efeitos do plasma sobre os espermatozoides, principalmente quando se objetiva o resfriamento e transporte do sêmen (Silva Filho, 1994). O efeito positivo da diluição do sêmen sobre a motilidade espermática se dá pela ausência de inibição do metabolismo espermático (Varner et al., 1987). A diluição de até 25×10^6 espermatozoides/mL foi benéfica; entretanto, quando adotadas taxas de diluição mais altas observou-se efeitos nocivos sobre os espermatozoides. O “efeito diluição”, como é denominado este fenômeno, tem sido bem caracterizado em várias espécies (Salisbury et al., 1943; Mihailov, 1950), cursando com a redução da viabilidade espermática (Mann, 1964).

A presença de substâncias no diluidor, tais como o leite, gema de ovo e proteínas séricas aumentam de maneira considerável a resistência espermática aos efeitos deletérios de uma alta taxa de diluição (Varner et al., 1987). Por outro lado, uma taxa de diluição baixa também resulta em baixa viabilidade espermática devido à carência de substratos energéticos e à perda da capacidade tamponante do meio (Flowers, 1996; Levis, 1997).

Milovanov et al. (1940) estabeleceram uma taxa de diluição ótima de 1:3 (sêmen: diluidor) para o sêmen equino, quando a sobrevivência espermática aumentou 11 a 12 vezes em relação ao sêmen não diluído. Nishikawa (1959) concluiu que a diluição do sêmen de 5 a 8 vezes em diluidor contendo gema de ovo, foi superior à diluição de 3 a 4 vezes, para a manutenção da motilidade espermática. Palmer (1984) obteve maior viabilidade espermática quando da utilização de taxas de diluição iguais ou superiores 1:5, sendo a taxa de diluição máxima por ele utilizada de 1:20. Com base na proposição de Varner et al. (1987) sabe-se que mais importante que a relação sêmen:diluidor é a concentração espermática final observada no

sêmen diluído, sendo que esta taxa de diluição dependerá da concentração inicial do ejaculado.

Único na literatura, o estudo de Beker (1997) avaliou o efeito de diferentes concentrações espermáticas por mL de sêmen diluído (25, 50 ou 100×10^6 spz/mL) sobre as características físicas da fração rica do sêmen asinino, diluída em diluidor a base de gema de ovo e resfriada a 5°C. Quando se comparou a motilidade total pós-diluição e pós-resfriamento observou-se superioridade para as menores concentrações (25 e 50×10^6 spz/mL). Entretanto, nos dias 2, 3 e 4 pós-coleta, a motilidade total foi maior nas concentrações espermáticas de 50 e 100×10^6 spz/mL. A partir do quinto dia de armazenamento, a concentração espermática não interferiu sobre a motilidade total. Para a variável vigor espermático houve tendência de superioridade nas concentrações envolvendo 50 e 100×10^6 spz/mL, nos dias 1, 2, 4 e 5 pós-coleta.

No sêmen asinino, Miró et al. (2009) avaliaram o efeito de diferentes taxas de diluição (1:1, 1:5 ou 1:10) ou da remoção do plasma seminal com ressuspensão a uma concentração de 25×10^6 espermatozoides/mL. Para tal, utilizou-se um diluidor a base de leite em pó desnatado- glicose (Kenney et al., 1975), sendo o sêmen resfriado a 5°C por até 72 horas. Às 24 horas, observou-se uma maior taxa de sobrevivência espermática nas amostras mais diluídas e na submetida à centrifugação (1:1- 48,71%; 1:5 - 56,58%, 1:10 - 62,65%; Centrifugada – 72,40%). As diferenças se mantiveram até às 48 horas (1:1 – 34,31%, 1:5 – 40,56%, 1:10 – 48,52%, Centrifugada - 66,30%). Após 72 horas de armazenamento, apenas as amostras centrifugadas apresentaram taxa de sobrevivência acima de 25%.

O fracionamento do ejaculado com coleta apenas da fração rica em espermatozoides, permite a obtenção de pequenos volumes com alta concentração espermática. Tal sistema permite que uma proporção ótima de plasma seminal, de 5 a 20%, esteja presente no

sêmen, após a diluição, de forma a reduzir os efeitos deletérios de altas porcentagens do plasma seminal sobre as células espermáticas a serem armazenadas resfriadas.

Apesar dos diversos estudos conduzidos na espécie equina e alguns na espécie asinina sobre os efeitos do plasma seminal durante o armazenamento do sêmen, a maioria concentra-se na avaliação das características espermáticas *in vitro*, a diferentes períodos, com resultados que demonstram, em sua maioria, vantagens para a remoção do plasma seminal. Há que se ressaltar a necessidade de mais experimentos conduzidos *in vivo* para comprovar a real capacidade fecundante dos espermatozoides asininos submetidos ao resfriamento, na presença ou ausência do plasma seminal.

2.1.1.7. Influência do volume e da concentração espermática por dose inseminante sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen resfriado e/ou transportado de equídeos

De acordo com Voss et al. (1981) e Arns et al. (1987) a manutenção de um número suficiente de espermatozoides com motilidade progressiva na inseminação artificial deve propiciar uma boa fertilidade, sob condições de manejo reprodutivo adequado. Não há um consenso entre os pesquisadores a respeito do número de espermatozoides/dose inseminante ideal para a obtenção da eficiência reprodutiva máxima. Assim, parece que a utilização de uma variedade de protocolos experimentais, com diferentes diluidores, a qualidade do sêmen, a individualidade do garanhão e o momento da inseminação talvez sejam responsáveis pelas divergências entre os resultados (Palhares, 1997).

Para o sêmen equino, Palmer (1984) preconiza doses inseminantes contendo 400×10^6 espermatozoides em um volume de 20 mL, com a qual obtiveram taxas de concepção de 69% para o sêmen armazenado por até oito horas. Para o sêmen fresco, doses inseminantes contendo 200 ou 400×10^6 espermatozoides propiciaram fertilidade

equivalente (45 e 48% de concepção por ciclo, respectivamente).

Pickett e Voss (1973) compararam a eficiência de três protocolos de inseminação: 1) 500×10^6 espermatozóides móveis por dose inseminante diluídos em 10 mL de diluidor (Tris, glicose, citrato, gema de ovo, glicerol); 2) 100×10^6 espermatozóides móveis por dose inseminante diluídos em 10 mL do mesmo diluidor, e 3) 500×10^6 espermatozóides móveis por dose inseminante *in natura*. Considerando-se as doses inseminantes de 500×10^6 espermatozóides móveis, a taxa de concepção, ao primeiro ciclo, foi de 61,1% para o sêmen *in natura*, e de 22,2% para o sêmen diluído. No protocolo utilizando 100×10^6 espermatozóides móveis por dose, a taxa de concepção observada, ao primeiro ciclo, foi de apenas 11,1%. Ao final de 4 ciclos, conceberam 72,2; 27,8 e 88,9% das éguas pertencentes aos protocolos 1, 2 e 3, respectivamente.

Em um estudo conduzido por Demick et al. (1976) utilizou-se o sêmen a fresco diluído ou resfriado, obtendo-se uma taxa de concepção de 63,9% para as éguas inseminadas com 100×10^6 espermatozóides móveis, em 2,5mL, que não diferiu da de 75,0%, obtida quando as éguas foram inseminadas com 500×10^6 espermatozóides, em um volume de 12,2 mL. Pace e Sullivan (1975) observaram aumento da taxa de nascimento em éguas inseminadas com sêmen congelado, quando aumentaram a dose inseminante de 40×10^6 para 80×10^6 espermatozóides; entretanto, o aumento da dose inseminante para 160×10^6 espermatozóides não resultou em ganhos adicionais.

Para a inseminação de éguas, Householder et al. (1981) utilizaram sêmen equino diluído em três diferentes diluidores a base de leite, comparando as taxas de concepção obtidas com doses inseminantes contendo 50 ou 500×10^6 espermatozóides móveis. As taxas de concepção observadas para as éguas inseminadas com 50×10^6 espermatozóides foram de 20,8; 15,8; 6,2 e 37,5% para os ciclos 1, 2, 3 e total, respectivamente; na

mesma ordem anterior foram de 16,7; 55,0; 33,3 e 75,0% para as éguas que receberam 500×10^6 espermatozóides com motilidade progressiva por inseminação. As diferenças foram observadas quanto às taxas de concepção obtidas durante o segundo ciclo (15,8 vs 55,0%) e na taxa de concepção geral (37,55 vs 75,0%), havendo vantagem para a maior concentração espermática/dose inseminante utilizada.

Douglas-Hamilton et al. (1984) recomendaram concentrações de 1 a $1,5 \times 10^9$ espermatozóides/ dose inseminante, na expectativa de que 50% deles sobrevivessem ao processo de resfriamento e transporte do sêmen. Assim, cerca de 500 a 750×10^6 espermatozóides móveis seriam utilizados no momento da inseminação. Com esta tecnologia obtiveram taxas de concepção ao primeiro ciclo e total de 65 e 91%, respectivamente.

Contendo um número mínimo recomendado de espermatozóides, taxas de concepção aceitáveis têm sido atingidas após a inseminação de éguas com volumes de sêmen entre 0,6 mL (Allen et al., 1976) a 120mL (Bedford e Hinrichs, 1994). Entretanto, foi demonstrado que as taxas de concepção (Allen et al., 1976; Rowley et al., 1990) e de sobrevivência *in vitro* foram otimizadas quando os espermatozóides equinos foram mantidos à concentrações entre 25 e 50×10^6 espermatozóides/mL de sêmen diluído (Varner et al. 1987).

Squires et al. (1989) avaliaram o efeito da dose e do volume inseminante sobre a taxa de recuperação embrionária em éguas. Para isto, utilizaram sêmen de garanhões diluído em diluidor a base de leite desnatado-glicose, com dose inseminante de 100×10^6 espermatozóides móveis/ dose, em um volume de 10, 100 ou 200 mL. A taxa de recuperação embrionária foi muito baixa para todos os tratamentos, provavelmente devido ao baixo número de espermatozóides por dose inseminante. Assim, a taxa de recuperação embrionária para as éguas inseminadas com 200 mL (10%, 1/10) não diferiu da observada

nas inseminadas com 100 mL (0%, 0/8). Já o número de embriões recuperados das éguas inseminadas com 200 mL foi menor que o obtido de éguas inseminadas com 10 mL (40%, 4/10). Em um segundo experimento, utilizou-se dose inseminante de 250×10^6 espermatozóides móveis/dose, com volumes de 10 ou 100 mL, obtendo-se maior taxa de recuperação embrionária nas éguas inseminadas com um volume de 10 mL (70,6%; 12/17), em relação àquelas inseminadas com 100 mL (13,6%; 3/22). Os autores observaram que embora utilizando inseminação artificial, com deposição intrauterina do sêmen, quando da aplicação de um volume de 100 mL, um volume considerável de fluido era expelido através da vagina logo após a inseminação, podendo resultar em um número insuficiente de espermatozóides atingindo a tuba uterina.

Tem sido demonstrado que a diluição excessiva do sêmen equino resulta em redução da motilidade espermática (Clay, 1987; citado por Squires et al., 1989). Neste sentido, Jasko et al. (1992b) observaram uma tendência ($p=0,17$) envolvendo a redução da recuperação embrionária de éguas inseminadas com um volume de 50 mL, contendo 5 milhões de espermatozóides móveis/mL, em relação ao que observou-se em éguas inseminadas com volumes de 10 mL contendo 25 milhões de espermatozóides móveis /mL. No entanto, não houve diferenças nas taxas de recuperação embrionária entre éguas inseminadas com volume de 50 mL contendo 25 milhões de espermatozóides móveis /mL ou inseminadas com volumes de 10 mL contendo 25 milhões de espermatozóides móveis /mL. Tais resultados enfatizam a maior importância da concentração espermática por mL do sêmen diluído nas doses inseminantes, em detrimento do volume ou da taxa de diluição (sêmen: diluidor), quando o número de espermatozóides móveis por dose inseminante for o mesmo.

Ao utilizarem a fração rica do ejaculado de garanhões, Heiskanen et al. (1994) prepararam doses inseminantes com volumes

entre 25 e 50 mL, contendo 2×10^9 espermatozóides totais. O sêmen respondeu por $24 \pm 6\%$ do volume total da dose inseminante. Após 70 ou 80 horas de armazenamento, a motilidade progressiva média foi de $29 \pm 11\%$, obtendo-se uma taxa de concepção de 65% por ciclo. Neste trabalho, observou-se que o alto número de espermatozóides por dose inseminante exerceu efeito compensatório sobre a baixa motilidade espermática, acompanhada pela obtenção de boas taxas de concepção. Para o sêmen congelado, o mesmo efeito não foi observado, uma vez que o aumento da dose inseminante de 400 para 800×10^6 espermatozóides não resultou em incremento da fertilidade (Palmer, 1984). Talvez os efeitos nocivos do crioprotetor e da crioproteção como um todo, podem responder por este achado.

Lima (1995) comparou a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen equino diluído, de acordo com a concentração espermática utilizada na última inseminação realizada, formando os grupos: 1) até 250×10^6 ($n=25$); 2) 250 a 300×10^6 ($n=34$) e 3) $>350 \times 10^6$ ($n=42$). Os resultados obtidos quanto às taxas de concepção ao primeiro ciclo (43,75%; 57,89% e 54,55%) e ao final de quatro ciclos (36%, 44,12% e 54,76%) não diferiram entre os grupos.

Ao utilizar doses inseminantes de 400 ou 800×10^6 espermatozóides, em 10 e 20 mL, respectivamente, submetidas ao resfriamento por 9,38 horas, Palhares (1997) não observou diferenças entre elas quanto às taxas de concepção por ciclo (56,76% e 47,83%, respectivamente). Para o sêmen fresco, Saturnino et al. (2002) compararam a fertilidade de doses inseminantes de 10 mL contendo 200 ou 400×10^6 espermatozóides, e também não observaram diferenças entre elas.

O único trabalho envolvendo a comparação do efeito de diferentes concentrações espermáticas por dose inseminante de asininos sobre a fertilidade de éguas foi o de Leite (1994), quando se utilizou sêmen fresco

diluído em diluidor de leite desnatado-glicose. Foram utilizados 154 ciclos estrais distribuídos entre os tratamentos utilizando doses inseminantes contendo 50, 100, 200, 400 ou 600×10^6 espermatozoides com motilidade progressiva. As taxas de concepção proporcionadas pelas inseminações com 50 ou 100×10^6 espermatozoides por dose, de 3,44% (1/29) e 20,68% (6/29), respectivamente, diferiram ($p < 0,05$) das obtidas com as doses contendo 200, 400 ou 600×10^6 espermatozoides com motilidade progressiva, de 53,12% (17/32); 70% (21/30) e 67,64% (23/34), respectivamente. Assim, para a utilização do sêmen asinino fresco e diluído, observou-se influência do número de espermatozoides com motilidade progressiva sobre as taxas de concepção por ciclo estral, até atingir-se o número de 200×10^6 espermatozoides móveis/dose inseminante.

Quando da inseminação de éguas com sêmen a fresco diluído em diluidor a base de lactose-gema de ovo, de asininos, Silva (1988) utilizou doses inseminantes contendo no mínimo 200×10^6 espermatozoides móveis em um volume de 5 a 10 mL. Neste trabalho, obteve índices de concepção de 68,3%, 82,3% e 92,1%, para três estações de monta consecutivas. O aumento das taxas de concepção de uma estação reprodutiva para a outra se deveu, provavelmente, ao maior domínio da técnica de inseminação artificial, além da maior adaptação das éguas à região e condições de manejo, segundo a autora.

Ferreira (1993) utilizou doses inseminantes de 250×10^6 espermatozoides com motilidade progressiva no momento da inseminação, para a avaliação da taxa de concepção em éguas inseminadas com sêmen fresco diluído de asininos, ou diluído e resfriado por 24 ou 48 horas. O volume médio das doses inseminantes foi de 14,27; 18,34 e 20,22 mL, na ordem em que os tratamentos foram citados, obtendo-se taxas de concepção de 82,70%; 80,00% e 75,90%, respectivamente.

Já Boeta e Quintero (2000) utilizaram doses inseminantes de 10 mL contendo 400×10^6 de

espermatozoides asininos para a inseminação de éguas. Obtiveram taxas de concepção de 54,5% e 76,5% para o sêmen diluído em diluidor de leite desnatado glicose e leite UHT, respectivamente, sendo o sêmen armazenado por até 48 horas à 5°C.

Também utilizando doses inseminantes contendo 400×10^6 espermatozoides móveis/dose inseminante, contudo, em um volume de 20 mL, Rossi (2008) obteve taxas de concepção/ciclo de 58,44 e 49,74% para o sêmen fresco diluído ou diluído e resfriado a 5°C, respectivamente. Uma dose inseminante menor, de 10 mL e contendo 200×10^6 espermatozoides móveis, foi utilizada por Vidament et al. (2009) para a inseminação de éguas com sêmen asinino diluído em leite e resfriado a 4°C por até 8 horas, resultando em uma taxa de concepção por ciclo de 45%.

Assim, com base na literatura disponível, doses inseminantes contendo entre 200 e 400×10^6 de espermatozoides móveis parecem ser capazes de manter taxas de concepção aceitáveis quando se utiliza o sêmen diluído e resfriado de asininos. Ressalta-se que, a máxima concentração espermática/dose inseminante utilizada para a inseminação de éguas com sêmen asinino foi de 600×10^6 células.

2.1.1.8. Influência do tipo de envasamento do sêmen e do percentual de gases sobre as características físicas e fertilidade do sêmen resfriado e/ou transportado de equídeos

O metabolismo energético é necessário na célula espermática para o início de processos catabólicos como a glicólise, manutenção do equilíbrio iônico adequado e da motilidade (Mann, 1964). A redução da viabilidade espermática durante o armazenamento é causada pela estimulação constante, ausência de anabiose natural e desintegração da cápsula lipídica. De acordo com Milovanov et al. (1940) para se criar um estado de anabiose adequado, com controle do processo de oxirredução, o sêmen deveria ser diluído em

diluidor com uma fonte de glicose e armazenado a temperaturas entre 3 e 10°C.

Já no ano de 1940, Milovanov et al. avaliaram o efeito do método de estocagem sobre a viabilidade do sêmen equino. O sêmen *in natura* não sobreviveu a qualquer grau de aeração. Para o sêmen diluído, a longevidade foi inversamente proporcional à aeração obtendo coeficientes de anabiose de 0,81 quando a aeração foi mínima e de 0,53 quando foi intensa. O autor também sugeriu, como melhor forma de transporte do sêmen, o acondicionamento do mesmo em tubos estreitos e a ausência de agitação.

Estudando a atividade metabólica dos espermatozóides equinos e asininos sob diferentes condições, Mann et al. (1963) concluíram que os espermatozóides dos equídeos são ineficientes quanto ao metabolismo anaeróbico, com baixa taxa de quebra da frutose adicionada ao meio sob condições de anaerobiose. Por outro lado, o metabolismo aeróbico dos espermatozóides equídeos é bastante eficiente, principalmente quando da adição de substratos. Entretanto, os espermatozóides asininos apresentaram maior taxa de metabolismo aeróbico quando comparados aos espermatozóides equinos. Após diluição da fração rica em espermatozóides em diluidor contendo gema de ovo e resfriamento a 5°C, a queda da atividade metabólica e da motilidade espermática foram mais rápidas para o sêmen equino quando comparado ao asinino. A explicação para esta diferença pode estar relacionada à alguma peculiaridade estrutural da célula espermática do jumento (Mann et al., 1963).

Além das observações de Mann et al. (1963), relatos envolvendo o armazenamento do sêmen sob diferentes condições de aeração inexistem para a espécie asinina, além de serem escassos para a espécie equina.

Neste sentido, Heiskanen et al. (1987) utilizando-se de diversos experimentos, buscaram identificar as condições ideais para a estocagem do sêmen equino por até 24

horas. Verificaram que, para o armazenamento do sêmen à temperatura entre 25-27°C, obteve-se os melhores resultados quando o sêmen foi diluído em diluidor a base de leite desnatado-glicose, suplementado com teofilina e, incubado em atmosfera contendo 5% de CO₂. Em um segundo experimento, utilizando a metodologia de resfriamento proposta por Douglas-Hamilton et al. (1984), observaram que a viabilidade espermática foi mantida por até 4-5 dias. Das diferentes atmosferas avaliadas para o acondicionamento do sêmen em sacos plásticos, os melhores resultados foram observados quando do fechamento dos mesmos, sem ar em seu interior.

Magistrini et al. (1992) avaliaram o efeito de diferentes formas de envase, temperaturas, diluidores e composição da atmosfera gasosa sobre as características móveis dos espermatozóides equinos estocados. Diferentes gases foram misturados ao diluidor (ar; ar + 5% CO₂ ou 90%N₂/5% CO₂/5% O₂), sendo o sêmen diluído submetido a três formas de envase, a saber: 0,5mL de sêmen + 4,5mL de gás sobre o sêmen; 2mL de sêmen + 3mL de gás ou 5mL de sêmen diluído. A composição da camada gasosa sobre o sêmen foi a mesma dissolvida no diluidor. Para o armazenamento à 37°C, os melhores valores quanto à porcentagem de espermatozóides com velocidade superior a 30µm/s (% rápidos) e a velocidade média (MnPath) foram obtidos quando da diluição do sêmen em diluidor Hepes-glicose-lactose – BSA (HGLL-BSA) contendo ar dissolvido, em comparação à suplementação com 5% de CO₂ ou 90%N₂/5% CO₂/5% O₂. A presença de CO₂ reduziu a porcentagem de espermatozóides rápidos, embora não tenha influenciado a velocidade média. O efeito negativo do CO₂ foi observado apenas quando presente na atmosfera sobre o sêmen, de forma que a sua adição ao diluidor não resultou em efeitos sobre a porcentagem de espermatozóides rápidos, nas amostras envasadas na ausência de uma atmosfera de cobertura. A esta temperatura, a presença de oxigênio parece ser necessária para se obter melhor sobrevivência espermática. Também

observou-se que, quando a distância entre os espermatozoides e o oxigênio foi reduzida, houve incremento da motilidade (Magistrini et al., 1992).

Quando o sêmen foi armazenado a 4°C, os efeitos do envasamento e da composição dos gases foram suprimidos, em decorrência, provavelmente, da atividade espermática menos intensa nesta temperatura. Enquanto a velocidade espermática média não foi influenciada a 37°C, a temperaturas inferiores (4°C), observou-se maior velocidade após a incubação em ambiente gasoso contendo maiores porcentagens de CO₂ (Magistrini et al., 1992). Além disso, no mesmo estudo, foi observada forte interação entre a temperatura de armazenamento e o diluidor utilizado. Para as características porcentagem de espermatozoides com velocidade superior a 30µm/segundo e velocidade média, os melhores valores foram observados quando o sêmen foi diluído em diluidor Hepes-glicose-lactose – BSA (HGLL-BSA) e armazenado a temperatura de 37°C. Já sob resfriamento a 4°C, os melhores valores foram observados para o sêmen diluído em diluidor INRA82®.

Embora o objetivo do estudo não tenha sido avaliar diferentes condições de aeração, Silva Filho (1994) utilizou mamadeiras plásticas com grande coluna de ar em seu interior, para o transporte do sêmen equino diluído e resfriado em diluidores a base de gema de ovo. No experimento I, a taxa de concepção obtida foi de 83,33% (25/30) para o diluidor Nagase modificado, sendo que no experimento II, obteve-se taxas de concepção de 56,36% (31/55) e 47,17% (25/53) para os diluidores de Dimitropulos e Nagase modificado, respectivamente. O autor ressalta que a utilização de bons diluidores e a fertilidade do ganhão sobrepuseram os efeitos deletérios da aeração, bem como de uma taxa de resfriamento e embalagem inadequada para o acondicionamento do sêmen diluído.

O transporte do sêmen diluído em diluidor de LPDG e resfriado a 14°C, por aproximadamente 3,5 horas, resultou em bons

resultados de fertilidade quando acondicionado em tubos de centrífuga na ausência de ar (Valle, 1997).

Comparando dois protocolos de estocagem do sêmen, sendo eles: 1) sêmen diluído nos diluidores INRA 82® ou LPDG, armazenado a 4°C sob condições anaeróbicas ou 2) sêmen diluído no diluidor INRA 96® e acondicionado a 15°C na presença de ar, Batellier et al. (1998) observaram que, após 24 horas de armazenamento, a fertilidade foi superior para o sêmen acondicionado segundo o protocolo 2, quando se obteve uma taxa de concepção/ciclo de 57%, quando comparada à de 40%, obtida com a utilização do protocolo 1.

Ao utilizarem o diluidor comercial EquiPro® com fosfocaseinatos em sua composição, Price et al. (2008) não observaram diferenças nas características físicas do sêmen equino armazenado sob condições aeróbicas ou anaeróbicas, a 5 ou 15°C.

Assim, a viabilidade espermática durante o armazenamento do sêmen parece ser mais influenciada pela composição do meio diluidor e pela temperatura de armazenamento do que pelo percentual de gases presente no meio ou sobre o sêmen.

2.1.1.9. Influência da taxa de resfriamento sobre as características físicas e fertilidade do sêmen resfriado e/ou transportado de equídeos

Desde o final do século XVIII existem relatos envolvendo a preservação de espermatozoides equinos utilizando-se do resfriamento. Entretanto, vários estudos foram e ainda são conduzidos com o objetivo de determinar a taxa ideal de resfriamento capaz de oferecer maior longevidade espermática, associada a índices de fertilidade adequados. Sabe-se que o resfriamento rápido do sêmen pode causar danos irreversíveis a célula espermática. Assim, a taxa de resfriamento do sêmen é considerada uma das maiores causas determinantes de injúria celular relativa à temperatura (Watson, 1981). Estudos

utilizando taxas que variaram de $-0,2^{\circ}\text{C}/\text{min.}$ à $1,6^{\circ}\text{C}/\text{min.}$, demonstraram que taxas em torno de $0,3^{\circ}\text{C}/\text{min.}$, foram as mais adequadas para o sêmen de garanhões (Douglas-Hamilton et al., 1984; Province et al., 1985; Varner et al., 1988). Taxas de resfriamento superiores a $0,3^{\circ}\text{C}/\text{min.}$, entre 20°C e 8°C , foram responsáveis por causar danos espermáticos irreversíveis, denominados “choque pelo frio”, caracterizados por padrão anormal de movimentação (movimento circular ou retrógrado), queda rápida da motilidade, danos à membrana plasmática, metabolismo reduzido e perda de componentes intracelulares (Amann e Pickett, 1987; Moran et al., 1992).

Em estudo conduzido por Douglas-Hamilton et al. (1984), observou-se que taxas de resfriamento superiores à $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ produziram efeitos deletérios sobre a motilidade e integridade estrutural dos espermatozóides equinos, representados por queda da motilidade, aumento dos defeitos morfológicos e da porcentagem de células coradas pela eosina-nigrosina, diferentemente do observado quando utilizou-se taxas de resfriamento inferiores à $0,33^{\circ}\text{C}/\text{min.}$

Segundo Jasko et al. (1992a) taxas de resfriamento mais lentas são necessárias apenas durante a faixa de temperatura em que as células espermáticas são mais sensíveis ao choque térmico. No mesmo sentido, Kayser et al. (1992) demonstraram que o resfriamento rápido entre 37 e 20°C não foi prejudicial à motilidade espermática; entretanto, entre a faixa de 20 à 5°C , observou-se maior sensibilidade dos espermatozóides, de forma que taxas de resfriamento mais lentas, entre $0,05$ e $0,1^{\circ}\text{C}$, maximizaram a sobrevivência espermática. Já Moran et al. (1992) concluíram que a faixa de sensibilidade dos espermatozóides equinos situa-se entre 19 e 8°C , sendo que entre 8 e 5°C , o resfriamento poderia ser feito rapidamente.

Uma menor taxa de resfriamento inicial, com o armazenamento do sêmen à 4°C manteve os melhores padrões de motilidade durante o

armazenamento entre 6 e 120 horas, em estudo realizado por Varner et al. (1988).

Oces et al. (1984) citados por Rozas (2005), compararam duas taxas de resfriamento para o sêmen asinino, sendo uma lenta ($0,24^{\circ}\text{C}/\text{min}$) e outra rápida ($2,2^{\circ}\text{C}/\text{min}$). Ao utilizarem um diluidor contendo gema de ovo, observaram superioridade da curva lenta.

Taxas de resfriamento de $0,6$, $0,3$ e $0,2^{\circ}\text{C}/\text{min}$, associadas aos diluidores de Kenney et al. (1975) e a base de lactose - gema de ovo proposto por Nagase e Graham (1964) e modificado por Silva Filho et al. (1987), foram utilizadas por Ferreira (1993) para estudar os efeitos sobre a manutenção da motilidade do sêmen de jumentos resfriado a 5°C . As taxas não influenciaram a longevidade espermática no sêmen diluído no diluidor de Kenney. Entretanto, a taxa de resfriamento de $0,6^{\circ}\text{C}/\text{min}$ foi superior para a manutenção da longevidade no sêmen asinino diluído em diluidor contendo gema de ovo (Ferreira, 1993).

Também Santos (1994) avaliaram o efeito de três taxas de resfriamento ($0,3$; $0,6$ e $1,0^{\circ}\text{C}/\text{min.}$) sobre as motilidades total e progressiva, e o vigor espermático do sêmen asinino resfriado a 5°C . Utilizando um diluidor a base de leite em pó desnatado-glicose (Kenney et al., 1975), o autor verificou que as características físicas do sêmen foram melhor preservadas quando da utilização de taxas de resfriamento mais rápidas ($0,6$ ou $1,0^{\circ}\text{C}/\text{min.}$), em relação à uma taxa mais lenta ($0,3^{\circ}\text{C}/\text{min.}$).

Em trabalhos subsequentes do mesmo grupo, Beker (1997), Mello et al. (2000) e Cotorello et al. (2002) utilizando diluidores a base de gema de ovo, adotaram curvas de resfriamento proposta por Ferreira (1993) para o sêmen asinino. Outros autores adotaram o sistema proposto por Douglas-Hamilton et al. (1984), envolvendo o Equitainer®, para o resfriamento do sêmen asinino (Boeta e Quintero, 2000; Rota et al., 2008). Estes dados sugerem que o sêmen asinino parece ser mais resistente ao choque

térmico que o equino, que o permite suportar taxas de resfriamento mais rápidas.

2.1.1.10. Influência da temperatura final de armazenamento sobre as características físicas e fertilidade do sêmen resfriado e/ou transportado de equídeos

A redução da temperatura auxilia na conservação do sêmen por redução do crescimento bacteriano e do metabolismo espermático, com controle subsequente da acidificação do meio diluidor. Ressalta-se, ainda, a redução da formação de espécies reativas de oxigênio, principalmente, quando associada à redução da oxigenação, favorecendo o metabolismo anaeróbico em detrimento do aeróbico (Katila, 1997; Squires et al., 1999; Aurich, 2008).

A utilização da temperatura como conservante do sêmen tem sido amplamente utilizada na indústria equestre (Raphael, 2007; Aurich, 2008). A manutenção do sêmen sob estado líquido, em detrimento do congelado, têm sido de grande importância comercial, devido não somente ao menor custo do processamento para o resfriamento do sêmen quando comparado ao congelamento, mas também à baixa fertilidade do sêmen congelado envolvendo um grande percentual de garanhões (Varner et al., 1989; Tischner e Kosiniak, 1992) e jumentos (Trimeche et al., 1998; Canisso, 2008), principalmente, quando da inseminação de jumentas.

Nishikawa e Sugie (1949) definiram que os extremos de temperatura em que os espermatozóides equídeos poderiam sobreviver eram de 54-56°C positivos à 17-18°C negativos. Verificaram, ainda, que temperaturas acima de 50°C e abaixo de 0°C reduziam significativamente a viabilidade espermática, concluindo que temperaturas entre 2-4°C foram ideais para o armazenamento do sêmen.

Segundo Amann e Graham (1993), o resfriamento induz efeitos mais marcantes na

fertilidade do que na motilidade espermática, uma vez que outros elementos na membrana celular podem sofrer alteração com a queda da temperatura, tais como as proteínas envolvidas no transporte de íons. A diminuição da capacidade enzimática, do transporte de proteínas, a perda de lipídios e de potássio são outros danos observados durante o resfriamento (Pickett e Komarek, 1966; Amann e Graham, 1993; Drobnis et al., 1993).

Em uma ampla revisão, Tischner (1975) apresentou evidências de que a estocagem do sêmen equino à 4°C resultou em menores taxas de concepção que as obtidas quando o sêmen foi armazenado a temperatura ambiente ou a 17°C. Já Palmer (1984), obteve melhor fertilidade (38%) quando as éguas foram inseminadas com sêmen equino diluído em leite e resfriado por uma hora a 5°C, em comparação ao sêmen resfriado a 20°C (21%). Ao contrário, Province et al. (1985) observaram motilidade espermática e fertilidade superiores quando o sêmen foi mantido à temperaturas entre 15 e 20°C, em comparação à 5°C, durante o armazenamento entre 4 e 12 horas.

Tem sido observado que uma redução de 10°C na temperatura do sêmen, provocou um declínio de 50% no metabolismo espermático, sendo que à temperatura de 5°C, apenas 10% do metabolismo é necessário para que os espermatozóides mantenham-se viáveis (Squires et al., 1999).

O efeito da temperatura de armazenamento sobre as características físicas do sêmen equino diluído em diluidor a base de leite desnatado-glicose foi avaliado por Varner et al. (1988). Neste estudo, avaliaram-se as amostras de sêmen às 6, 12, 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a coleta. A longevidade espermática foi bastante reduzida quando os espermatozóides foram armazenados à 37°C, em comparação ao que se observou quando de sua manutenção à temperaturas mais baixas (25 ou 4°C). Às seis horas de armazenamento os valores médios de motilidade espermática total do sêmen

armazenado a 37°C, à 25°C ou à 4°C foram de 5,4±1,1; 79,8±1,6 e 82,1±1,6%; respectivamente. As motilidades espermáticas total e progressiva do sêmen refrigerado a 4°C foram superiores ($P < 0,05$) às do sêmen refrigerado à 25°C, para cinco dos sete períodos (24 a 120 h), enquanto a velocidade espermática do sêmen resfriado a 4°C ($P < 0,05$) foi maior que a do sêmen refrigerado à 25°C para todos os períodos avaliados.

Alguns estudos têm mostrado uma superioridade da qualidade seminal quando da sua conservação a 5°C em comparação a 20°C (Varner et al., 1988). Assim, quando utilizou-se diluidores a base de leite, temperaturas entre 4 e 6°C preservaram melhor a motilidade dos espermatozóides em relação ao armazenamento entre 0 e 2°C. Entretanto, para o mesmo diluidor, a temperatura de armazenamento de 4°C foi superior à de 20°C. Por outro lado, observou-se uma melhor manutenção da motilidade espermática a 20°C em comparação às de 10 e 5°C, quando utilizou-se diluidores que não continham leite em sua composição (Magistrini et al., 1992).

Diferentes resultados de fertilidade, de acordo com as temperaturas finais e tempo de armazenamento do sêmen, foram apresentados por Guay et al. (1989): 5°C/24h (48,57%), 5°C/48h (43,33%), 14,5°C/2h (58,06%); 20,0°C/2h (79,41%); 20°C/24h (39,28%); 20°C/48h (13,33%). Neste trabalho, observou-se que de um modo geral, a motilidade espermática não foi afetada pela temperatura final de armazenamento. Entretanto a única temperatura que limitou o crescimento de *Pseudomonas aeruginosa* foi a de 5°C.

Zidane et al. (1991) também observaram alta contaminação do sêmen diluído em diluidor de leite em pó desnatado-glicose e mantido a 20°C por 48 horas com *Pseudomonas aeruginosa*, que inviabilizou este tratamento devido à redução da fertilidade, acompanhada por severa endometrite em 3 das 14 fêmeas inseminadas (21,43%). O resfriamento a 5°C respondeu por uma maior taxa de recuperação

embrionária em éguas inseminadas com sêmen resfriado por 24-48 horas.

Batellier et al. (1998) comparando os diluidores INRA 96® e Kenney ou INRA 82®, observaram que a taxa de concepção por ciclo foi superior para o sêmen diluído no INRA96® e armazenado a 15°C, quando comparado ao diluído nos diluidores de Kenney ou INRA82® (avaliados conjuntamente) e armazenado a 4°C, ambos por 24 horas (57% e 40%, respectivamente). Além disso, o sêmen diluído no diluidor INRA96® manteve a mesma taxa de concepção quando o sêmen foi armazenado a 5°C. Com base nesses resultados, os autores sugeriram que o armazenamento do sêmen à 15°C protege a membrana dos espermatozóides das injúrias causadas pelo “cold shock” (choque pelo frio), especialmente, nos garanhões cujo sêmen não suporta resfriamento à temperatura de 4°C, o que pode ser uma alternativa para estes casos. Entretanto, para tempos de armazenamento superiores à 24 horas, a temperatura final entre 4-6°C parece ser mais adequada para a manutenção das características físicas do sêmen (Varner et al., 1988).

Love et al. (2002) demonstraram que a desnaturação do DNA espermático de garanhões ocorreu em diferentes velocidades, dependendo da temperatura de armazenamento do sêmen. Assim, quando os espermatozóides foram armazenados à 5°C, em diluidor a base de leite, observou-se manutenção da qualidade da cromatina espermática, sem alterações na taxa de desnaturação do DNA ao longo de 46 horas de armazenamento. Entretanto, nos espermatozóides armazenados à 20°C, observou-se desnaturação moderada, verificando-se naqueles armazenados à 37°C altas taxas de desnaturação do DNA.

A maior parte da literatura referente ao resfriamento do sêmen asinino adota como temperatura final de armazenamento à de 5°C sem, no entanto, ter havido um estudo prévio, visando-se estabelecer se esta temperatura é a mais adequada para esta espécie. Diante disto,

Cottorello et al. (2002) avaliaram o efeito de diferentes diluidores e temperaturas de armazenamento sobre a motilidade e o vigor espermáticos do sêmen asinino. Neste estudo, foram utilizados três diluidores: diluidor a base de leite desnatado, diluidor Baken (3% de gema de ovo) e Baken modificado (10% de gema de ovo), associados à três temperaturas de armazenamento: 0, 5 ou 10°C. O sêmen foi armazenado por seis dias. Independentemente da temperatura de armazenamento, observou-se que os diluidores Baken foram superiores ao diluidor a base de leite, para a manutenção da atividade espermática. No segundo dia de armazenamento, enquanto a maior parte dos espermatozoides apresentava-se inativa no diluidor a base de leite, a motilidade foi superior a 30% nos diluidores Baken.

Para os diluidores Baken e Baken modificado, Cotorello et al. (2000) observaram que a temperatura de 10°C tendeu a ser menos eficiente que às de 5 ou 0°C. Para o diluidor contendo 10% de gema de ovo (Baken modificado) não foram observadas diferenças entre as temperaturas de 0 ou 5°C. No que se refere ao diluidor contendo menor proporção de gema de ovo (Baken – 3% de gema de ovo), observou-se que a temperatura de 5°C foi superior para a manutenção das características físicas do sêmen. A temperatura de armazenamento de 10°C foi superior à de 0°C apenas para o sêmen diluído em diluidor a base de leite desnatado (Cottorello et al., 2000).

Em um experimento conduzido por Ferreira (1993), o sêmen asinino diluído em diluidor a base de leite ou de gema de ovo e mantido à temperatura ambiente (28 a 30°C) resultou em motilidade espermática inferior à 10%, nas primeiras 24 horas de armazenamento. Entretanto, quando submetido ao resfriamento a temperaturas entre 4-6°C, o sêmen diluído em diluidor lactose – gema de ovo manteve uma motilidade espermática superior à 10%, por até 96 horas. Tal observação vai de encontro ao proposto por Varner et al. (1988) e Brinsko e Varner (1993), de que o armazenamento à temperatura ambiente ocasiona um déficit energético, enquanto o

abaixamento da temperatura (4-6°C) promove mudanças no metabolismo espermático de forma a equilibrar as suas reservas. Assim, Beker (1997) observou uma motilidade progressiva superior à 10% por até 120 horas para o sêmen asinino resfriado a 5°C.

Diferentes temperaturas de armazenamento do sêmen foram utilizadas por Serres et al. (2002), quando avaliaram o comportamento das células espermáticas do jumento, submetidas ao resfriamento à 4°C, 15°C ou 20°C, por até 96 horas. Os espermatozoides armazenados à 4°C e 15°C mantiveram sua viabilidade por até 96 horas, não havendo diferenças entre as mesmas quanto às motilidades total e progressiva, nos diferentes tempos de avaliação. Já o sêmen mantido a 20°C manteve-se viável por até 48 horas; entretanto, apresentou motilidades total e progressiva e integridade de membrana inferiores às observadas quando utilizaram-se temperaturas mais baixas de armazenamento. Quanto à integridade da membrana espermática, esta foi mais bem preservada à 15°C do que à 4°C ou à 20°C.

Também Dalmau (2003) avaliou o efeito de diferentes temperaturas de armazenamento sobre a viabilidade do sêmen asinino. Desconsiderando-se os efeitos dos diluidores utilizados, a motilidade progressiva foi mantida a valores iguais ou superiores a 30%, por período similar quando o sêmen foi armazenado a 4°C ou à 15°C (39,5 e 35,71 hoeas, respectivamente), tempo superior ao observado para o sêmen armazenado a 20°C (12,03 horas). Observou-se, ainda, uma viabilidade espermática superior à 90 horas, no sêmen diluído no diluidor INRA82® e resfriado a 4°C.

Rozas (2005) estudou os efeitos da adição de complexos colesterol – ciclodextrina (CLC's) e da temperatura de armazenamento (4 ou 15°C) sobre os parâmetros espermáticos motilidade total (MT) e progressiva (MP) e integridade de membrana, durante o armazenamento do sêmen asinino. Às 24 horas de armazenamento observou-se apenas efeito do tratamento sobre os parâmetros

avaliados, com superioridade dos grupos tratados com CLC's, sem diferenças entre as temperaturas de armazenamento. Às 48 horas de armazenamento, os melhores resultados de MT e MP permaneceram associados ao sêmen previamente tratado com CLC's ($p < 0,0001$). Além disso, a porcentagem de espermatozoides com membrana plasmática íntegra foi ligeiramente superior nas amostras armazenadas à 15°C. Após 72 horas de armazenamento, os tratamentos não apresentando CLC's em sua constituição, resultaram nos piores resultados de MT e MP, especialmente, quando se conservou o sêmen à 4°C ($p < 0,05$). Já as amostras tratadas com CLC's apresentaram MT e MP ligeiramente superiores quando armazenadas à 4°C. Não foram observadas diferenças significativas quanto à integridade de membrana; entretanto, melhores resultados foram associados à temperatura de 15°C. Apenas as amostras tratadas com CLC's e armazenadas à 5°C apresentaram motilidade total superior à 30% após 72 horas de armazenamento.

Baseando-se na motilidade progressiva acima de 30%, Contri et al. (2010) obtiveram uma viabilidade espermática por até 120 horas, quando o sêmen foi diluído no diluidor INRA 96® e resfriado a 5°C.

Inexiste na literatura atual estudos comparando o efeito de diferentes temperaturas de armazenamento do sêmen sobre a taxa de concepção de éguas inseminadas com sêmen asinino. Neste sentido, para inseminação de éguas, Ferreira (1993) armazenou o sêmen asinino à 5°C por 24 ou 48 horas e obteve altas taxas de concepção, de 80,00 e 75,90% respectivamente, sendo estes valores similares aos obtidos quando da utilização do sêmen fresco diluído (82,70%). Em trabalho conduzido por Rozas (2005), a taxa de concepção obtida na inseminação de jumentas com sêmen asinino armazenado a 15°C foi de 26% e 41%, em duas estações de monta consecutivas.

Também utilizando uma temperatura final de 5°C para o armazenamento do sêmen de

jumentos da raça Pêga, Rossi (2008) obteve taxas de concepção/ ciclo de 49,74% em éguas, para o sêmen armazenado por até 12 horas, e de 58,44% para o sêmen fresco diluído. Apesar de não ter sido realizada comparação estatística entre estes valores, numericamente, as taxas de concepção obtidas foram próximas. Vidament et al. (2009) resfriaram o sêmen de jumentos à 4°C por até oito horas antes da inseminação e obtiveram taxa de concepção por ciclo de 45% inseminando éguas e jumentas.

Buscando na literatura dados disponíveis a respeito da taxa de concepção de éguas inseminadas com sêmen asinino fresco ou fresco/diluído, observou-se apenas quatro publicações. Em 1954, Jordão et al. avaliaram a fertilidade de 259 éguas cobertas por monta natural com 28 jumentos. No decorrer de 14 estações de monta, a taxa de concepção média foi de apenas 35,9%. Silva (1988) obteve taxas de concepção de 68,3% à 92,1% ao utilizarem sêmen fresco diluído em diluidor a base de lactose-gema de ovo. Leite (1994), ao utilizar uma dose inseminante contendo 400×10^6 espermatozoides móveis, observou uma taxa de concepção por ciclo de 70%. Em Cuba, Díaz et al. (2009) registraram taxas de concepção de 32,08% em 134 éguas cobertas por monta natural e de 53,80% em éguas inseminadas com sêmen de jumentos, diluído em diluidor a base de leite. Confrontando estes achados com os resultados obtidos por Ferreira (1993), Boeta e Quintero (2000), Vidament et al. (2009) e Rossi (2008), o resfriamento do sêmen à 4-5°C por até 24 horas parece preservar as características seminais sem acarretar prejuízos à fertilidade das éguas inseminadas.

2.1.1.11. Efeito do tempo de estocagem do sêmen sobre as características físicas e fertilidade do sêmen resfriado e/ou transportado de equídeos

O intervalo de tempo no qual o sêmen pode ser mantido *in vitro* e ainda manter sua fertilidade é influenciado pelo diluidor, pela temperatura de armazenamento e pela variabilidade individual (Pickett et al. 1987).

Os resultados descritos por Pickett (1995) mostram que à medida que o tempo de armazenamento aumenta, a fertilidade é reduzida, particularmente quando o sêmen é armazenado por tempo superior à 12 horas à 20°C ou 48 horas à 5°C.

Demick et al. (1976) demonstraram que curtos períodos de armazenamento (2 horas) não resultaram em decréscimo da fertilidade por ciclo quando comparados ao sêmen fresco. Entretanto, o efeito do resfriamento, mesmo que por curtos períodos, foi percebido ao final de três ciclos.

Em equinos, Francel et al. (1987) obtiveram uma fertilidade razoável (62%) com o sêmen resfriado a 20°C durante 24 horas, apesar do decréscimo significativo da motilidade espermática progressiva (19%). No mesmo sentido, de Vries et al. (1987) e Hughes e Loy (1970) alcançaram em torno de 75% de concepção com sêmen diluído, resfriado e armazenado por até 96 horas. Por outro lado, foi observada uma queda na fertilidade, quando utilizou-se inseminações artificiais com o sêmen diluído, resfriado e armazenado por 24 horas (Demick et al., 1976) e 24-48 horas (Nishikawa, 1975; Tischner, 1975), em relação ao sêmen *in natura*.

Ao compararem a fertilidade obtida com a utilização do sêmen a fresco diluído no diluidor INRA96® ou após 72 horas de armazenamento à 15°C, Batellier et al. (1998) observaram uma redução na taxa de concepção por ciclo, após o armazenamento do sêmen (68% versus 48%). Entretanto as taxas obtidas após 72 horas encontravam-se dentro dos parâmetros aceitáveis, viabilizando o armazenamento do sêmen por este período.

A motilidade espermática observada por Ferreira (1993) para o sêmen asinino diluído em diluidor a base de gema de ovo, resfriado a 5°C, foi de 63,33% após 24 horas de armazenamento, sendo este valor superior aos 55,68% observados após 48 horas de armazenamento. Além disso, observou-se uma motilidade superior à 10% entre 72 e 96 horas de armazenamento. Apesar das

diferenças de motilidade entre os tempos de armazenamento, as taxas de concepção por ciclo estral, para o sêmen asinino diluído em diluidor contendo gema de ovo foi de 80% para o sêmen armazenado por 24 horas a 5°C; de 75,90% para o tempo de armazenamento de 48 horas e de 82,70% para o sêmen a fresco diluído, não havendo diferenças ($p>0,05$) entre os tratamentos. Deve-se ressaltar, ainda, a utilização de apenas um reprodutor no trabalho mencionado anteriormente.

No estudo conduzido por Serres et al. (2002), o sêmen asinino centrifugado e diluído no diluidor INRA82®, quando armazenado a 4°C, manteve uma motilidade acima de 30% por até 96 horas. Entretanto, quando foi mantido à 20°C, a viabilidade espermática foi bastante reduzida.

Rozas (2005) avaliou o efeito da incorporação de CLC's sobre as características físicas do sêmen asinino diluído, resfriado e armazenado por até 72 horas. A autora observou que independentemente do tratamento, houve uma queda significativa das motilidades total e progressiva e da integridade da membrana espermática, ao longo do período de armazenamento. Os parâmetros espermáticos avaliados foram superiores nos grupos tratados com CLC's em relação ao grupo controle, sendo a queda mais acentuada para os parâmetros de motilidade total e progressiva, entre 24 e 48 horas, no tratamento controle.

Ao trabalhar com sêmen asinino a fresco diluído ou resfriado por até 12 horas, Rossi (2008) obteve taxas de concepção/ciclo de 58,44 e 49,74% para o sêmen fresco diluído e diluído e resfriado a 5°C, respectivamente. As médias não foram comparadas devido ao fato dos experimentos não terem sido contemporâneos. Considerando-se a ocorrência de intervalos entre a última inseminação e a ovulação de até 72 horas e uma viabilidade presumida do oócito de 12 horas, o sêmen asinino resfriado a 5°C, manteve, em tese, seu poder fecundante por até 60 horas. Taxa de concepção aproximada

(45%) foi obtida por Vidament et al. (2009) ao inseminar éguas com sêmen asinino diluído, resfriado a 4°C e armazenado, entretanto, por até 8 horas. Os intervalos de 48 horas entre as inseminações resultaram em uma viabilidade de até 36 horas para este experimento, obedecendo-se à mesma viabilidade presumida do oócito citada anteriormente.

Utilizando o sêmen asinino centrifugado, diluído e resfriado a 5°C, Contri et al. (2010) observaram efeito do diluidor utilizado bem como do mês do ano sobre a manutenção da viabilidade espermática. Sendo o experimento realizado na Itália, durante os meses de dias longos (Maio e Junho), o sêmen diluído no INRA96® manteve uma motilidade progressiva satisfatória (PMOT 35,7 ± 10,1%) e um adequado padrão de movimento (STR 88,8±5,7%) até às 120 horas de armazenamento, enquanto o E-Z Mixin® manteve a PMOT = 32,4±8% e o STR = 81,9±9,1% por até 48 horas. Durante os meses de dias curtos (Novembro e Dezembro), a queda da qualidade seminal, durante o resfriamento, se deu da mesma forma; entretanto, observou-se uma queda mais acentuada para os dois diluidores utilizados. Assim, o sêmen diluído no meio INRA96® apresentou uma PMOT de 21,2 ± 4,7% às 48 horas de armazenamento e o diluído no E-Z Mixin® apresentou uma PMOT insatisfatória já às 24 horas de armazenamento (15 ± 3,5%).

2.1.1.12. Contêineres utilizados para o resfriamento e/ou transporte do sêmen de equídeos

O resfriamento do sêmen equídeo pode ser realizado em sistemas de refrigeração ativo ou passivo. O primeiro apresenta decréscimo da temperatura padronizado e não sofre influência da temperatura ambiente; entretanto, sua aplicabilidade econômica e prática é limitada para as condições de campo (Davies-Morel, 1999; Valle et al., 1999).

Para o resfriamento e transporte do sêmen equino, unidades de resfriamento do tipo

contêiner foram desenvolvidas. Dentre eles destacam-se o Equitainer (Douglas-Hamilton et al., 1984), Celle e Sarsted (Hueck, 1990), Especial (Palhares, 1997) e Celle modificado (Valle, 1997). Apesar da praticidade de propiciarem o resfriamento do sêmen enquanto o mesmo é transportado, a maioria destes contêineres deve retornar ao remetente devido ao seu alto custo (Jasko et al., 1992a).

Um dos contêineres mais utilizados no mundo para o transporte de sêmen equino é o desenvolvido por Douglas-Hamilton et al. (1984), denominado Equitainer™. Este sistema é dotado de um volume termicamente isolado, onde um bloco refrigerador à temperatura de 0°C resfria a amostra removendo seu calor por condução, a uma taxa controlada. Um recipiente condutor interno proporciona um ambiente isotérmico, no qual a amostra seminal é armazenada, em sacos plásticos estéreis. Este sistema promove então uma taxa de resfriamento inicial de -0,3°C/min., atingido uma temperatura final entre 4 e 6°C, em torno de 10h após o fechamento do contêiner, sendo esta temperatura mantida por até 36h.

Avaliando o comportamento da motilidade espermática do sêmen armazenado no Equitainer™, Douglas-Hamilton et al. (1984) registraram valores médios de 76% entre 10 e 13h de armazenamento, 64% entre 14 e 24h e de 59% entre 24 e 36h. Deve-se ressaltar que foram utilizados apenas três reprodutores para a obtenção destas médias. Uma das desvantagens desse sistema é que o volume de sêmen é armazenado em recipiente único sem individualização das doses inseminantes.

No teste de fertilidade, o sêmen armazenado no Equitainer™ e utilizado entre 6 e 12h após a coleta resultou em 90% de concepção; similar ao observado para o sêmen utilizado entre 12 e 24h após a coleta (93%). Ao final de três ciclos, a taxa de concepção obtida com sêmen armazenado por até 24h foi de 91% (Douglas-Hamilton et al., 1984).

Nos Estados Unidos, contêineres alternativos ao Equitainer™, de menor custo foram

desenvolvidos, dentre eles o ExpectaFoal™, constituído de um recipiente isolado para o acondicionamento do sêmen, blocos de gelo, uma caixa de isopor revestida por uma tampa de papelão; e o Equine Express™, adaptado de um sistema desenvolvido para o transporte de sêmen humano, originalmente sueco, que consiste em seringas utilizadas para o acondicionamento do sêmen diluído, uma caixa de isopor e um bloco de gelo único.

Katila et al. (1997) avaliaram o comportamento *in vitro* do sêmen equino acondicionado nestes três sistemas comerciais para o resfriamento e transporte do sêmen: Equitainer™, ExpectaFoal™ e Equine Express™. Para tal utilizaram quatro ejaculados de três garanhões, diluídos em diluidor de leite em pó desnatado – glicose a uma concentração de 25×10^6 espermatozoides/mL e armazenados por 24h. O intervalo entre o início do resfriamento até que a temperatura da amostra excedesse 10°C, já durante a fase de reaquecimento, foi de 27,5; 33,5 e 53h, para o Expecta-Foal™, Equine Express™ e Equitainer™, respectivamente, indicando superioridade do último contêiner, por manter o sêmen à temperatura inferior à 10°C por mais tempo. Entretanto, após 24h de armazenamento, os valores médios de motilidade total e progressiva, não diferiram ($p>0,05$) entre os três contêineres.

Os trabalhos realizados à procura do contêiner ideal têm sido associados à obtenção da melhor forma de envasamento do sêmen. Assim, tem-se buscado o envasamento em frascos ou bolsas plásticas, que permitam a eliminação de todo o ar presente, a fim de se diminuir a aeração e a agitação do sêmen durante o transporte (Silva Filho, 1994). O contêiner ideal deve atender às seguintes exigências: 1) apresentar um isolamento completo do meio exterior; 2) obter uma taxa lenta de resfriamento; 3) manter a temperatura após estabilização (4-8°C), durante o maior período possível, 4) proteger o sêmen contra atrito; 5) possuir uma estrutura forte para permitir segurança durante o transporte e 6)

ser simples, de baixo custo, leve e de fácil manuseio (Palhares, 1997).

Baseando-se nesses princípios, vários experimentos foram realizados no Brasil, dentro de uma linha de pesquisa, visando-se o aprimoramento dos contêineres (Palhares, 1987; Palhares, 1988; Silva Filho et al., 1991; Silva Filho, 1994; Carvalho, 1994; Ribeiro Filho, 1996; Valle, 1997).

Um recipiente de transporte e resfriamento do sêmen equino baseado no contêiner “Celle” descrito por Hueck (1990) foi proposto por Ribeiro Filho (1996). Este sistema consistia basicamente de um orifício maior central, onde era inserido o componente refrigerador (um copo de cobre contendo gelo reciclável previamente armazenado em congelador por 48 horas), e quatro orifícios concêntricos ao orifício central no qual eram inseridos tubos com capacidade de 14mL, destinados a armazenar as doses inseminantes.

Palhares (1997) realizou experimentos *in vitro* e *in vivo* para determinar a taxa de resfriamento, viabilidade e fertilidade do sêmen equino, diluído em diluidor de leite desnatado-glicose, resfriado em um contêiner especialmente projetado para o transporte. O contêiner proposto é composto por seis orifícios laterais, onde eram inseridos os tubos de vidro contendo as doses inseminantes, e um orifício central, de diâmetro maior onde era inserido o bloco refrigerador. O orifício central comunica-se com os laterais, dispostos de forma concêntrica, por 14 orifícios de 0,7 cm de diâmetro. Este contêiner possibilitou taxas de resfriamento rápidas (-0,48°C/min.) entre 37 - 18°C, taxas lentas (-0,07°C/min.) entre 18-8°C e lentas (-0,01°C/min.) entre 8 e 5,6°C. A temperatura no interior do contêiner se manteve estável por 24h. A temperatura ambiente não influenciou a temperatura no interior do contêiner até a sua abertura. A fertilidade média foi de 75,44%, sendo o tempo médio de armazenamento de $9,40 \pm 2,68$ horas.

Outra modificação do contêiner “Celle” foi proposta por Valle (1997), sendo o mesmo utilizado para o resfriamento e transporte do sêmen equino, quando obteve-se taxas de concepção por ciclo e total de 52,03% e 77%, respectivamente. As taxas de resfriamento obtidas com este sistema foram de - 0,07°C/min. entre 37 e 19°C; -0,03°C/min. entre 19 e 9°C, sendo que a temperatura se estabilizava entre 9-10°C, às 3,5h após o início do resfriamento.

A individualização das doses inseminantes é importante para a funcionalidade adequada de um contêiner, possibilitando maior praticidade no momento da inseminação, quando permite a retirada de apenas uma ou mais doses, mantendo as demais sob refrigeração. Os modelos Celle (Hueck, 1990), Especial (Palhares, 1997), Celle modificado (Valle, 1997) e Sarsted (Van der Holst, 1984) permitem a individualização das doses inseminantes. Entretanto, nos modelos Equitainer (Douglas-Hamilton et al., 1984), MSP-1 (Palhares, 1988) e MSP-2 (Silva Filho, 1991; Carvalho, 1994; Lima, 1995) o sêmen é acondicionado em um compartimento único, sem divisão prévia das doses inseminantes.

No sistema proposto por Palhares (1997), utilizam-se tubos estreitos com capacidade de 22 mL. Assim, a disposição das doses no interior do contêiner permite o transporte de 12 doses inseminantes de 10 mL (duas doses por tubo) e ainda, uma dose de segurança, distribuída no espaço remanescente dos seis tubos (2 mL/tubo).

Os contêners utilizados até o momento para o resfriamento e transporte do sêmen asinino foram o Equitainer™ e o especial. Para o sêmen asinino armazenado no sistema proposto por Douglas-Hamilton et al. (1984) por até 24h, taxas de concepção de 76,5% foram obtidas (Boeta e Quintero, 2000). Utilizando o contêiner proposto por Palhares (1997) para o armazenamento e transporte do sêmen de jumentos, Rossi (2008) obteve taxas de concepção por ciclo de 49,74%, para o

sêmen armazenado por até 12h após sua coleta.

2.1.2. Fatores inerentes às fêmeas equinas

A fertilidade é uma equação multifatorial que depende da condição reprodutiva da fêmea (idade, categoria reprodutiva, fertilidade intrínseca, doenças uterinas e outras patologias), do macho (coleta e processamento do sêmen, manejo da monta, fertilidade intrínseca) e do manejo ao qual os mesmos foram submetidos (Amann e Pickett, 1987; Graham, 1996).

A fertilidade intrínseca da fêmea representa uma fonte de variação dificilmente mensurável quando da avaliação da fertilidade *in vivo*. Nos equídeos, realizar estas provas com um número suficiente de fêmeas representa um alto custo econômico, além de se tornarem quase impossíveis quando envolvem animais em risco de extinção, como algumas raças de asininos. Por estes motivos, a maioria dos laboratórios de pesquisa tem adotado provas laboratoriais para a avaliação da fertilidade do sêmen e, mesmo quando utilizam testes *in vivo*, o fazem com um número insuficiente de fêmeas (Amann, 1989). Para um grande número de espécies, estabelecer a fertilidade real de um indivíduo é muito difícil. Além disso, correlacionar avaliações laboratoriais com fertilidade parece ter um valor limitado. Assim, ressalta-se a importância da realização das provas de fertilidade com um número adequado de éguas quando se quer avaliar um determinado indivíduo em monta natural ou quando da utilização da inseminação artificial com sêmen fresco, resfriado ou congelado.

Poucos são os trabalhos envolvendo o processamento do sêmen asinino que realizaram testes de fertilidade (Ferreira, 1993; Leite, 1994; Boeta e Quintero, 2000; Rozas, 2005; Rossi, 2008; Vidament et al., 2009), sendo mais escassos ainda aqueles que avaliaram o efeito das características inerentes à fêmea sobre a fertilidade obtida (Ferreira, 1993; Rossi, 2008).

2.1.2.1. Efeito da idade

Na espécie equina, diferentemente de outros animais de produção, na maioria dos casos, os animais são selecionados pelo seu desempenho atlético, sendo alguns indivíduos mantidos por tempo prolongado nas provas de desempenho esportivo, com consequente afastamento da atividade reprodutiva, que pode começar tardiamente (Pycock, 2006). Éguas com idade superior à 20 anos são mantidas, frequentemente pelos proprietários, seja para trabalho ou companhia. Nessa população, os oócitos permanecem em repouso na fase de meiose por décadas (Carnevale, 2008). Sendo assim, éguas de idade avançada fazem parte de diversos rebanhos, constituindo importante fonte de variação nos índices de fertilidade obtidos.

Em um estudo envolvendo 659 éguas com data de nascimento conhecida, Hutton e Meacham (1968) observaram que a fertilidade média oscilou até os 7 anos de idade, atingiu um pico de 89,6% aos 9 anos, manteve um platô acima de 70% até os 15 anos e declinou gradualmente após esta idade.

Apesar da relação negativa entre o avançar da idade e a fertilidade ser clara na égua, permanece incerto se esse efeito é devido ao aumento da ordem de parto ou ao simples envelhecimento. Há uma correlação positiva entre a idade da égua e a taxa de perda embrionária, que provavelmente obedece à seguinte progressão: reduzida contratilidade e tônus uterino, menor habilidade para expulsão de contaminantes do útero e maior incidência de endometrites (Ginther, 1992). Associa-se a estas alterações, a redução da qualidade do oócito inerente ao avançar da idade (Carnevale e Ginther, 1995).

Ao estudar o comprimento da vulva e o seu ângulo de inclinação em relação ao ânus, em éguas de diferentes faixas etárias, Pascoe (1979) observou que quanto mais velha a égua, maior era o ângulo de inclinação da vulva que por sua vez esteve intimamente relacionado com a queda da taxa de concepção. Justificativa para tal associação

envolve a maior probabilidade de estabelecimento de endometrites com o aumento da inclinação vulvar.

Henry (1981) observou maior ocorrência de aderências do infundíbulo tubárico em éguas acima de 10 anos de idade, correlacionada a uma maior frequência de salpingites e endometrites, contribuindo para a infertilidade. Os cistos endometriais também foram mais frequentes em éguas mais velhas, acometendo 73,1% das éguas acima de 14 anos de idade e estiveram associados à uma redução da taxa de concepção (Tannus e Thun, 1995). Segundo Ginther (1992) torna-se difícil estabelecer a real contribuição dos cistos uterinos na subfertilidade de éguas mais velhas, uma vez que outras patologias uterinas têm maior incidência nesta faixa etária.

Clinicamente, anormalidades do endométrio têm sido consideradas um importante fator na reduzida fertilidade de éguas mais velhas. Um grande número de estudos tem caracterizado alterações degenerativas do endométrio em função do aumento da idade da égua, sendo o declínio da fertilidade, frequentemente atribuído ao aumento destas alterações que incluem endometroses, endometrites, bem como alterações vasculares (Ball, 2000). Éguas com idade superior a 15 anos apresentaram maior incidência de alterações inflamatórias e degenerativas uterinas, associadas à uma menor contratilidade do útero em relação às éguas jovens (Carnevale et al., 1993).

Embora os espermatozóides participem ativamente do seu transporte pelo sistema genital feminino, contrações do miométrio e da miosalpinge são importantes na regulação do seu transporte para o local de fertilização. Troedsson et al. (1998) observaram aumento da atividade miometrial 0,5 hora após a inseminação com sêmen fresco, sendo a contratilidade uterina afetada tanto por fatores inerentes à fêmea, quanto inerentes ao macho. Assim, a menor contratilidade uterina em éguas mais velhas seria um importante fator

capaz de alterar o transporte espermático no sistema genital feminino.

Camillo et al. (1997) relataram diferenças estatísticas para alguns parâmetros de fertilidade entre fêmeas de diferentes idades. Assim, para éguas acima de 15 anos a taxa de concepção/ciclo foi de 55,5% e inferior à de éguas com idade até cinco anos (82,7%), às de 6 a 9 anos de idade (74,3%) e às éguas de 10 a 14 anos de idade (71,2%).

Objetivando estudar a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen equino diluído e resfriado, Valle (1997) agrupou as fêmeas em quatro faixas etárias: I) 3-6 anos; II) 7-10 anos; III) 11-14 anos e IV) 15-19 anos. As taxas de concepção por ciclo obtidas foram de 62,07%; 63,64%; 52,50% e 29,41%, sendo a média do grupo IV inferior às demais.

Na maioria dos trabalhos, tem-se encontrado diferenças quanto à fertilidade entre os grupos de diferentes faixas etárias. Entretanto, utilizando éguas inseminadas com sêmen diluído em diluidor de leite em pó desnatado, Brandão (2001) não encontrou diferenças entre éguas de diferentes faixas etárias (4-6, 7-10, 11-14 e 15-16 anos de idade) no que se refere à taxa de concepção ao primeiro ciclo e à taxa de concepção/ ciclo, após quatro ciclos, com valores médios de concepção ao primeiro ciclo de 66,07% e de 53,85%, para a taxa de concepção/ciclo. Talvez, o fato do grupo de éguas mais velhas neste experimento não conter animais com mais de 16 anos de idade tenha impossibilitado a identificação de diferenças entre eles, no que se refere aos parâmetros de fertilidade avaliados.

Ball et al. (1986) e Ginther (1992) relataram que as taxas de fertilização aproximaram-se dos 90% e não sofreram grande interferência da idade, sendo de 91-96% para éguas jovens e de 81-92% para as éguas apresentando idade mais avançada. Vários autores demonstraram uma redução nas taxas de nascimento em uma amplitude de idade de 14 a 16 anos (Woods et al., 1987; McDowell et al., 1992; Gibbs e Davison, 1992). Apesar das perdas fetais aumentarem em éguas velhas ao

final da gestação, as perdas precoces são as principais responsáveis pela reduzida fertilidade observada. Estimativas do percentual de perdas embrionárias entre a fertilização e o décimo dia de gestação, estão em torno de 9% para éguas jovens e 60-70% para éguas velhas (Ball et al., 1986, 1989).

Nas observações de Hemberg et al. (2004), a idade da égua não exerceu efeito significativo sobre a taxa de concepção, embora fosse comprometedora da taxa de nascimentos ($p=0,008$). A taxa de perdas gestacionais entre o primeiro diagnóstico de gestação, realizado entre os dias 14 e 15 pós-ovulação e o parto foi de 25,9% para éguas com idade superior a 13 anos, enquanto a média para todas as idades foi de 12,5%. Neste mesmo estudo, uma análise envolvendo a relação entre categoria reprodutiva e idade da égua mostrou que 72,7% das éguas solteiras ou que reabsorveram/abortaram na estação anterior estavam nos grupos entre 9-13 anos e acima de 13 anos. Isto indica que não somente éguas acima de 13 anos, mas também as entre 9 e 13 anos apresentam maior taxa de perdas gestacionais do que éguas mais jovens. Esta observação está de acordo com os achados de Morris e Allen (2002), quando observaram que as perdas gestacionais quase dobraram em éguas na faixa etária entre 9 e 13 anos, em relação àquelas entre 3 e 8 anos.

Possíveis causas de perdas embrionárias em éguas de maior idade incluem: anormalidades do ambiente uterino, falhas no transporte dos gametas ou alterações na tuba uterina e defeitos embrionários. Deformidades do sistema genital, que facilitam o acesso de contaminantes para o interior do útero, também contribuem para as menores taxas de concepção observadas (Ginther, 1992).

Segundo Carnevale e Ginther (1995), a contratilidade uterina insuficiente poderia resultar em uma redução da mobilidade do embrião e um contato inadequado do mesmo com o endométrio, capaz de comprometer o mecanismo de reconhecimento materno da gestação e permitir a luteólise com consequente perda embrionária.

Quando blastocistos morfologicamente normais, nos dias 7 ou 8, foram transferidos para o útero de receptoras jovens ou mais velhas, as taxas de sobrevivência embrionária nos dias 12 e 28 não diferiram entre os grupos, sendo de 55% e 45% aos 12 dias, para éguas jovens ou mais velhas, respectivamente (Ball e Woods, 1987). Os resultados deste estudo indicaram que os efeitos uterinos não são os principais responsáveis pela alta incidência de perda embrionária observada previamente em éguas mais velhas. A recuperação de oócitos no dia 4, ou de embriões equinos no dia 7, e transferência dos mesmos para tubas uterinas ou úteros de éguas jovens, resultou em menores taxas de gestação, quando os oócitos ou embriões eram oriundos de fêmeas mais velhas (Ball et al., 1989; Carnevale e Ginther, 1995). Assim, os efeitos deletérios da idade da égua sobre a fertilidade devem ser atribuídos, principalmente, à defeitos intrínsecos ao oócito e ao embrião resultante. Assim, as anormalidades uterinas talvez exerçam maior impacto em estádios mais avançados da gestação (Ball, 2000).

Ao comparar as taxas de concepção aos três dias, utilizando-se embriões, e aos 11, através de ultrassonografia, entre éguas jovens (2 a 9 anos) e velhas (> 20 anos), Carnevale et al. (1993) observaram que a taxa de concepção e o número de células por embrião foram menores nas éguas velhas, aos três dias pós-ovulação. Os embriões obtidos deste grupo receberam maiores pontuações quando da avaliação morfológica, correspondentes a uma baixa qualidade morfológica. A taxa de gestação aos 11 dias foi superior nas éguas jovens (89%) em comparação às velhas (44%).

Brinsko et al. (1994) cultivaram embriões *in vitro*, coletados aos dois dias pós-ovulação, de éguas jovens (2-7 anos) e velhas (17-24 anos), na presença de células epiteliais de tuba uterina de éguas jovens e velhas. Observaram, neste estudo, que a proporção de embriões que atingiram o estágio de blastocisto foi similar entre os grupos, nos diferentes tipos

de cultura. No entanto, blastocistos desenvolvidos de embriões obtidos de éguas velhas foram inferiores aos das éguas jovens quanto ao número de núcleos celulares, escore de qualidade, e diâmetro aos sete dias de idade. Posteriormente, Aguilar et al. (2002) observaram que éguas velhas (>15 anos) apresentaram uma maior proporção (47% contra 19%, respectivamente) de oócitos com citoplasma fragmentado quando comparados aos de éguas jovens, de 3 a 8 anos, o que explicaria em parte os resultados obtidos por Brinsko et al. (1994).

Especula-se que, em éguas velhas, espécies reativas de oxigênio, geradas durante a fosforilação oxidativa, tenham mais tempo para causar danos cumulativos sobre a membrana mitocondrial do oócito. No entanto, essa lesão só se torna aparente quando a demanda de energia pelo oócito é maior, por exemplo, durante a maturação *in vitro*. A redução do número de mitocôndrias e da qualidade de oócitos maturados de éguas velhas pode ter um consequente efeito sobre a competência do seu desenvolvimento. Em mulheres, o baixo número de cópias do DNA mitocondrial (mtDNA) do oócito tem sido associado com a baixa fertilidade, enquanto em camundongos, grandes danos às mitocôndrias do oócito, restringem a habilidade deste em sofrer a quebra da vesícula germinal, a formação do fuso meiótico, a segregação dos cromossomos, a extrusão do corpúsculo polar e a formação do blastocisto (Rambags et al., 2005).

As anormalidades cromossômicas também foram propostas como contribuintes das perdas embrionárias precoces em equinos (Ball et al., 1989), embora sua ocorrência não tenha sido demonstrada. Em um estudo mais recente, Rambags (2007) comprovou que anormalidades cromossômicas podem ser encontradas em células de embriões equinos macroscopicamente normais. A maioria das anormalidades encontradas foram poliploidias (2n/3n, 3n/4n), sendo que os embriões continham uma pequena proporção de núcleos poliplóides. No entanto, permanece incerto se um pequeno grau de poliploidia

pode e como afetar a viabilidade do embrião. Finalmente, devido ao baixo número de embriões, não foi possível estabelecer uma correlação entre a idade da égua e a incidência de anormalidades cromossômicas.

Mitchell e Allen (1975) estudaram o desempenho reprodutivo de 137 potras, entre 12 e 14 meses de idade, expostas ao garanhão pela primeira vez, por quatro estações de monta consecutivas. Houve concepção de 95 das fêmeas (69,34%), sendo que destas, 44 (46,32%) abortaram de forma espontânea. Como exames adicionais não indicaram agentes infecciosos como causadores das perdas, assim como as concentrações de gonadotrofina coriônica (eCG) foram similares entre as que perderam as gestações e as demais, concluiu-se que a alta incidência de perdas gestacionais foi ocasionada, principalmente, pela imaturidade das fêmeas púberes.

Também avaliando a eficiência reprodutiva de potras da raça Mangalarga, que iniciaram sua atividade reprodutiva aos 34 meses de idade, Oliveira et al. (1986) observaram alta taxa de perda embrionária precoce (50%), especulando que coberturas antes dos 36 meses de idade, de potras com maturidade reprodutiva eventualmente incompleta, podem contribuir para o aumento da incidência de perdas gestacionais.

A literatura a respeito do efeito da idade sobre a fertilidade de éguas destinadas a produção de muare é escassa. Jordão et al. (1954) observaram que éguas com idades entre 9 e 11 anos apresentaram as taxas de gestação mais elevadas enquanto as com idade entre 21 e 23 anos, as menores. Fêmeas mais jovens (entre 3 e 5 anos) tiveram fertilidade superior à média geral.

Rossi (2008) avaliou o efeito da idade sobre a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen asinino diluído e resfriado a 5°C. Os 195 ciclos foram classificados de acordo com a idade das éguas, formando grupos com 2,5 - 6,0 anos; 6,5 - 10 anos; 10,5 - 14,0 anos e 14,5 a 19 anos, que não diferiram entre si

quanto à taxa de concepção ao primeiro ciclo (68,42%; 50,75%; 46,88% e 52,17%) e por ciclo (69,57%; 47,92%; 46,34% e 45,71). O fato dos maiores prejuízos envolvendo os efeitos da idade sobre a fertilidade da égua expressarem-se sobre a incidência de perdas gestacionais e não necessariamente sobre a concepção pode responder pelos resultados obtidos pela autora.

2.1.2.2. Efeito da categoria reprodutiva

As éguas, de modo geral, podem ser distribuídas em categorias reprodutivas de acordo com o seu estado fisiológico e metabólico. Cada categoria seja potra, égua solteira (vazia na estação anterior), parida ou no “cio do potro”, possui suas particularidades. Von Lepel (1975) descreve potras e éguas gestantes com um potencial de fertilidade superior (70-100%) ao de éguas que não conceberam na estação anterior (50-70%), ao das vazias por mais de duas estações reprodutivas consecutivas (25-50%) e bem superior ao daquelas susceptíveis às infecções e as com idade avançada (< 25%).

Por outro lado, Caslick (1937) relatou taxas de concepção de 77,9; 82,9 e 83,7% para éguas Puro-Sangue paridas com “potro ao pé”, éguas solteiras e potras, respectivamente. Já Andrews e McKenzie (1941), citados por Hutton e Meacham (1968) obtiveram uma taxa de concepção de 71,1% para éguas lactantes, de 68,9% para éguas solteiras e de 42,1% para potras. Os resultados de Hutton e Meacham (1968) mostraram menor variação entre os grupos, com taxas de concepção de 79,5; 72,4 e 78,6%, respectivamente, para éguas lactantes, solteiras e potras. Palhares (1989) observou taxa de concepção durante o cio do potro de 62,11% (159/259), em éguas da raça Mangalarga Marchador.

Van Rensburg e Van Herden (1953) estabeleceram que a ocorrência de atresia folicular, acompanhada de estro normal, foi uma das causas mais importantes de infertilidade na égua. No Brasil, Palhares (1989) observou atresia folicular em 9,29% dos ciclos estrais de potras, frequência maior

que a observada em éguas (2,22%). Da mesma forma, Silva Filho et al. (1987) relataram frequência de anovulação de 12,4% para éguas e de 27,6% para potras.

Wilsher e Allen (2002), estudando primíparas, observaram uma área total microcotiledonária, que fica em contato com o feto, significativamente menor que a de éguas múltiparas. Tal observação pode explicar a menor fertilidade observada em potras muito jovens, bem como o menor peso dos potros nascidos de primíparas, em relação aos de fêmeas múltiparas, influenciado por fatores de maturação uterina. Dessa maneira, têm sido demonstrada a necessidade de um adequado período pós-puberdade para o completo desenvolvimento reprodutivo, pois se observa, na espécie equina, aumento considerável do tamanho da genitália no decorrer da puberdade (Andrade, 1986).

Os índices de fertilidade não diferiram entre éguas solteiras, lactantes, potras ou éguas com histórico reprodutivo desconhecido, cobertas por monta natural com jumentos, no estudo de Jordão et al. (1954). Interessantemente, estes autores observaram taxas de concepção numericamente superiores para éguas solteiras ou que haviam abortado ou produzido natimortos durante a estação reprodutiva.

Gibbs e Davison (1992) avaliando a eficiência reprodutiva de éguas mantidas em pastagem nativa, apenas com pequena suplementação, observaram taxa de parto média de 80%. Registrou-se, neste estudo, para éguas que permaneceram vazias na estação de monta anterior uma taxa de parto de 94%, sendo esta porcentagem superior ($p < 0,05$) à registrada para éguas lactantes (74%). Ademais, para éguas de idade avançada e em lactação observou-se uma taxa de parto de 37%, média inferior à das éguas lactantes jovens, que necessitaram de um maior número de ciclos por concepção ($p < 0,05$).

Muitos estudos têm citado uma menor taxa de concepção (10 a 33%) em éguas cobertas no primeiro cio pós-parto, quando comparada às

obtidas em estros subsequentes. Fatores relacionados ao manejo contribuem para a variação nas taxas de gestação nos diferentes experimentos (Loy, 1980). Assim, menor fertilidade durante o “cio do potro” tem sido associada à eliminação incompleta de micro-organismos introduzidos no ambiente uterino durante a cópula ou inseminação artificial diante de uma involução uterina incompleta (McKinnon et al., 1988). A maioria das éguas tem diferentes graus de contaminação bacteriana do útero após o parto, embora grande parte delas seja capaz de eliminar as bactérias até o “cio do potro” (Saltiel et al., 1987). Entretanto, a involução uterina pode não estar completa quando do primeiro cio pós-parto. Desta forma, o ambiente uterino inapropriado pode tanto impedir que os espermatozóides atinjam o local da fertilização como comprometer o desenvolvimento embrionário (Huhtinen et al., 1996).

Diferentemente de outras espécies mamíferas, a involução do endométrio na égua ocorre rapidamente após o parto (Gygax et al., 1979). A perda do epitélio luminal não foi observada como um fenômeno pós-parto (Ginther, 1992), de forma que a maioria dos pesquisadores está de acordo que o endométrio tem uma aparência histologicamente normal, ou seja, encontra-se completamente reparado até 10 dias após o parto (Sertich et al., 1989; Sertich e Watson, 1992). O fato de ocorrer tão pouco dano ao endométrio, explica-se pelo tipo de placentação epiteliocorial simples presente na égua.

Alguns autores têm proposto que baixas taxas de gestação no “cio do potro” são mais prováveis de ocorrer naquelas éguas que ovulam precocemente no período pós-parto. Desta forma, Loy (1980) e Bell e Bristol (1987) relataram menor fertilidade em éguas ovulando dentro de 10 ou menos dias pós-parto, sendo esta observação atribuída à involução uterina incompleta, algumas vezes com presença de fluido intrauterino no momento da cobertura e da chegada do embrião ao útero, 5 a 6 dias após a ovulação.

Durante o estro, a presença de fluido intrauterino pode ser espermicida, podendo estar relacionada à luteólise precoce ou morte embrionária (McKinnon et al., 1988).

Ao retardar a ocorrência da primeira ovulação no pós-parto, através da administração de progestágenos, McKinnon et al. (1988) verificaram aumento significativo das taxas de concepção. Assim, uma maior proporção de éguas tornou-se gestante quando a ovulação ocorreu após os 15 dias pós-parto, em comparação às que ovularam previamente. Já Blanchard et al. (2004), em um estudo retrospectivo de cinco estações reprodutivas, não observaram correlação entre o dia da ovulação no pós-parto e a taxa de concepção durante o “cio do potro”.

Menor contaminação do útero, associada à inseminação artificial ou menor número de coberturas, pode ser benéfica para a fertilidade de éguas acasaladas no primeiro cio pós-parto. Referenciando tal citação, Blanchard et al. (2004) obtiveram uma taxa de gestação de 66% utilizando monta natural e de 83% ao utilizarem a inseminação artificial em éguas durante o “cio do potro”.

Ginther et al. (1985) observaram maior percentual de perda embrionária para éguas com histórico de perda gestacional na mesma estação reprodutiva e nas apresentando acúmulo de fluido uterino intraluminal. Essas duas categorias apresentaram-se similares nos seguintes aspectos: menor taxa de concepção e menor concentração de progesterona nos dias 7 e 11 pós-ovulação. Pode ser que os fatores responsáveis pela perda embrionária tenham sido os mesmos causadores dos acúmulos intraluminais de fluido.

Ao utilizar sêmen diluído e resfriado a 5°C, de jumentos da raça Pêga, Ferreira (1993) obteve altas taxas de concepção para as diferentes categorias reprodutivas de éguas inseminadas: potras (81,8%), éguas solteiras (93,7%) e éguas com potro ao pé (81,8%). Também utilizando sêmen asinino diluído e resfriado, Rossi (2008) obteve taxas de concepção/ ciclo de 62%; 47%; 55% e 47%;

para potras, éguas solteiras, éguas com potro ao pé e éguas no “cio do potro”, não sendo observadas diferenças entre elas.

2.1.2.3. Efeito do momento de deposição do sêmen no sistema genital da égua em relação à ovulação

Apesar de ter sido descrito que éguas cobertas com garanhões férteis podem conceber mesmo quando a ovulação ocorreu dias após a monta, as taxas de concepção aumentam significativamente quando as mesmas ocorrem próximo da ovulação (Woods et al., 1990). Assim, torna-se imperativo uma determinação mais precisa do momento da ovulação em relação à cobertura ou inseminação, notadamente quando as éguas são cobertas com garanhões muito requisitados e somente um serviço por ciclo é disponível ou quando são cobertas por garanhões apresentando baixa concentração ou longevidade espermática. Deve-se salientar, ainda, as éguas que devem ser inseminadas apenas uma vez devido a falhas no “clearance” uterino ou as susceptíveis a infecções uterinas, bem como as inseminadas com sêmen resfriado e transportado ou congelado, em virtude do número de doses ser, normalmente, limitado e, em muitas vezes, de qualidade inferior. Além disso, a redução do número de inseminações por ciclo resultará em um trabalho mais eficiente e econômico durante a estação de monta (Samper et al., 2002).

A inseminação artificial deve ser feita no momento adequado, de forma que tanto os gametas masculinos quanto o feminino estejam viáveis no momento da fertilização (Jacob et al., 2000). Para que ocorra a fertilização necessita-se da presença de um oócito maduro e de espermatozóides capazes de realizar a fertilização. A capacitação espermática ocorre quando os espermatozóides são expostos às secreções do sistema genital feminino sendo este processo necessário para que o gameta masculino adquira capacidade fertilizante. Uma vez que esse processo se completa, o tempo de sobrevivência do espermatozoide na tuba

uterina, antes da fertilização do oócito é que irá determinar quando a concepção poderá ocorrer após uma única cobertura antes da ovulação (Stone, 1994). Assim, quando a inseminação é realizada na fase pré-ovulatória, a fertilização dependerá essencialmente da viabilidade espermática no sistema genital da égua, enquanto que na IA pós-ovulação a fertilização dependerá, essencialmente, da viabilidade do óvulo.

O período de sobrevivência dos gametas no sistema genital da égua foi motivo de estudos já na década de 40 (Zivotkov, 1941; Laing, 1943; Skatin, 1943). Apesar disso, o período de viabilidade dos espermatozóides e do oócito *in vivo* ainda é bastante controverso. A viabilidade dos gametas é o fator determinante do intervalo máximo da inseminação artificial à ovulação, capaz de ainda proporcionar boa fertilidade (Woods et al., 1990).

Nesse contexto, Day (1942) descreveu uma viabilidade espermática de até seis dias (144 horas) no sistema genital da égua, enquanto para Laing (1943) esta viabilidade foi de aproximadamente 24 horas, embora para Kamhi e Varadin (1965) tenha sido de 72 horas. Há que se ressaltar os vários fatores capazes de interferir no tempo de sobrevivência espermática no sistema genital feminino, a saber: a composição do fluido luminal (Hunter, 1990), bem como a individualidade do reprodutor e o tratamento à que o sêmen foi submetido previamente (Silva Filho, 1994). O transporte do sêmen e a sobrevivência dos espermatozóides no sistema genital de éguas variam entre garanhões férteis e subférteis, entre éguas férteis e subférteis e entre os diferentes tipos de sêmen utilizados: fresco, resfriado ou congelado (Drobnis e Overstreet, 1992).

A viabilidade do oócito no sistema genital da égua envolve um período de 8 a 10 horas (Chang, 1951; Hunter, 1990). Entretanto, Dantas (1995) demonstrou que o oócito equino mostra-se viável por até 12 horas após a ovulação. Segundo Hunter (1990), o tempo de viabilidade do oócito depende do estágio

de desenvolvimento em que este se encontra no momento da ovulação.

O estágio de desenvolvimento do oócito equino no momento da ovulação varia entre fêmeas e, até mesmo, entre ciclos de uma mesma fêmea, sendo possível que uma fêmea ovule um oócito primário, secundário ou até mesmo numa fase intermediária entre estes dois estágios. Esta variação pode ser atribuída a um extenso período de exposição ao hormônio luteinizante (LH) no período pré-ovulatório, fenômeno também observado em ovelhas, vacas e porcas. Quando o oócito é ovulado ainda na forma imatura, o término de seu desenvolvimento ocorre durante a passagem pela tuba uterina. Se assim ocorrer, terá maior vida útil antes que se inicie o processo de degeneração, o que poderia explicar o sucesso da inseminação pós-ovulação (Hunter, 1990).

Vários trabalhos compararam a taxa de gestação de éguas cobertas à diferentes intervalos antes e/ou após a ovulação (Zivotkov, 1941; Laing, 1943; Kedrov, 1945; Cheng, 1964; Kamhi e Varadin, 1965; Palmer, 1984; Woods et al., 1990), com um decréscimo da taxa de prenhez proporcional ao aumento do intervalo da cobertura à ovulação. Assim, Cheng (1964) relatou taxas de concepção de 33,3%; 66,2%; 55,8%; 78,1% e 100% para éguas inseminadas a intervalos de 48; 26 a 48; 24 a 36; 12 a 24 e 6 a 12 horas antes da ovulação, respectivamente.

Kamhi e Varadin (1965) obtiveram taxas de concepção totais de 0%; 33,3%; 54,5%, 92,5% e 55,1% para fêmeas pôneis cobertas 4, 3, 2, 1 e 0 dias da ovulação. No mesmo sentido, Palmer (1984), trabalhando com éguas inseminadas com sêmen fresco à intervalos entre 72 a 48 horas; 48 a 24 horas e 24 a 0 horas antes da ovulação obteve taxas de concepção por ciclo de 63%, 66% e 50%, respectivamente. Para os intervalos até 12 horas ou entre 12 e 24 horas após a ovulação estes índices foram de 47% e 18% respectivamente. Neste experimento, não observou-se diferenças quanto à fertilidade

por ciclo para nenhum dos intervalos avaliados. Quando da utilização do sêmen congelado, observou-se um incremento da fertilidade quando o intervalo de realização das inseminações pós-ovulação foi reduzido de 24-48 horas para 0-24 horas, com taxas de concepção de 12 e 26%, respectivamente.

Quanto às inseminações após a ovulação, Pickett et al. (1987) e Woods et al. (1990), consideraram-nas viáveis dentro de 12 horas de sua ocorrência, período no qual os resultados foram similares aos de inseminações realizadas antes da ovulação. Estudando o mesmo tema, Saltzman (1940) e Cheng (1964) realizaram inseminações pós-ovulação com sêmen fresco em um período de 6-14 horas e até 6 horas após a ovulação, respectivamente, e obtiveram taxas de concepção totais de 72,4% e 85,7%. Ainda Belling Jr. (1984) utilizando monta natural dentro de até 24 horas após a ovulação, obteve uma taxa de concepção total de 82,53% enquanto Katila et al. (1988), obtiveram concepção em éguas cobertas até 18-24 horas pós-ovulação.

Segundo Hunter (1990), a partir de 12 horas após a liberação do oócito, torna-se significativo o processo de degeneração nuclear associado ao pareamento imperfeito dos cromossomos, tendo como principal sequela a perda embrionária. Além disso, com o envelhecimento do oócito, os grânulos responsáveis por desencadear o bloqueio à poliespermia distanciam-se da córtex, não havendo as mudanças na membrana plasmática que impeçam a entrada de vários espermatozoides (Hunter, 1990). Assim, no experimento de Katila et al. (1988), em que a taxa de concepção total foi de 46%, após inseminações artificiais realizadas de zero a 27 horas após a ovulação, esta foi reduzida para 29%, devido às perdas embrionárias. Enquanto que, no estudo de Dantas (1995), cobrições realizadas até 12 horas após a ovulação mostraram-se viáveis e não foram associadas à maior ocorrência de perdas embrionárias.

Em estudo conduzido por Woods et al. (1990), a taxa de concepção obtida para éguas inseminadas com sêmen fresco antes da ovulação (61%) não diferiu da obtida para éguas inseminadas no dia da ovulação (52%) e superou, no entanto, a observada para as inseminadas um dia após a ovulação (6%). Ainda neste estudo, os autores observaram que, para as inseminações realizadas pós-ovulação, diferença na taxa de concepção foi observada entre os intervalos de 0-6 horas (11/14; 78,57%) e 18-24 horas (7/21; 33,33%). As taxas de concepção totais obtidas por Chalhoub et al. (1996), com inseminações realizadas entre 48 e 24 horas antes da ovulação foram 48% e 60%; e após a ovulação de 59,52%, similares às apresentadas por Zivotkov (1941), Kedrov (1945) e Cheng (1964), utilizando sêmen fresco.

Samper et al. (1991) observaram que, para as éguas submetidas apenas à uma inseminação, aquelas inseminadas até 12 horas após a ovulação apresentaram taxa de concepção menor ($p < 0,05$) que as inseminadas pré-ovulação (30 e 60%, respectivamente). Já Vianna (2000) não observou diferenças nas taxas de concepção de éguas inseminadas entre 12 horas antes ou 6 horas após a ovulação.

Para maximizar as taxas de concepção em um sistema de criação de equinos, éguas normais podem ser cobertas ou inseminadas entre 24 e 48 horas antes da ovulação. No entanto, éguas cobertas com garanhões sub-férteis ou inseminadas com sêmen resfriado ou congelado terão maiores taxas de concepção quando cobertas/inseminadas entre 12 horas antes e 6 horas depois da ovulação (Samper, 1997). Entretanto, Valle (1997) trabalhando com sêmen equino resfriado, relatou uma sobrevivência espermática de até 60 horas, mesma viabilidade observada por Rossi (2008) para o sêmen asinino resfriado por até 12 horas.

Ao utilizarem sêmen equino congelado, Sieme et al. (2003) obtiveram com uma única inseminação realizada entre 12 e 24 horas da

ovulação, 30,8% de concepção/ciclo. Esta taxa foi melhorada significativamente quando associou-se uma segunda inseminação, realizada dentro de 12 horas pós-ovulação (61,9%).

A gonadotrofina coriônica humana (hCG) e o acetato de deslorelina tem sido amplamente utilizados como agentes indutores de ovulação em fêmeas equinas, obtendo-se altas taxas de ovulação após 48 horas de aplicação (83 e 94%, respectivamente - Berezowski et al., 2004). No entanto, o intervalo entre a aplicação desses hormônios e a ovulação pode variar de 12 a mais de 48 horas (Barbaccini et al., 2000). Sieme et al. (2003) observaram que a ovulação ocorreu dentro de 48 horas da administração de gonadotrofina coriônica humana em 97,5% (391/401) das éguas.

Em um estudo conduzido por Squires et al. (1998), objetivou-se avaliar o efeito do número de espermatozóides, bem como do intervalo entre inseminação-ovulação sobre a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen equino resfriado. Para tal, as éguas foram distribuídas em três grupos: I) éguas que receberam dose inseminante contendo 1×10^9 de espermatozóides resfriados à 5°C, em dias consecutivos, estando o sêmen armazenado por 24 e 48 horas, para a primeira e segunda inseminação, respectivamente; II) éguas que receberam apenas uma dose inseminante contendo 1×10^9 de espermatozóides resfriados a 5°C por 24 horas e III) éguas que receberam apenas uma dose inseminante contendo 2×10^9 espermatozóides resfriados a 5°C por 24 horas. Todas as éguas receberam hCG no momento de realização da primeira (GI) ou única (GII e GIII) inseminação, sendo que o intervalo entre a última inseminação e a ovulação foi de 0,9; 2,0 e 2,0 dias para os grupos I, II e III, respectivamente. Assim, as taxas de concepção obtidas foram de 64% para o GI, superior aos 31% e 41,4% obtidos para GII e GIII, respectivamente ($p < 0,05$), que por sua vez não diferiram entre si. Segundo os autores, a integridade da membrana espermática é um requisito para que ocorra a adesão dos espermatozóides às células epiteliais da tuba uterina e

consequente formação do reservatório espermático, sendo que o processo de resfriamento pode ser responsável por lesões nas membranas dos espermatozóides. Assim, dependendo do grau de comprometimento da integridade estrutural da membrana, uma única inseminação com sêmen resfriado seria insuficiente para formar um reservatório espermático adequado, independentemente da dose inseminante. Adicionalmente, se as células submetidas ao resfriamento não forem capazes de colonizar o reservatório por tempo suficiente até que ocorra a ovulação, pode haver o esgotamento do mesmo. Em ambos os cenários, o reabastecimento do reservatório por uma segunda dose contendo espermatozóides progressivamente móveis contribuirá para aumentar as chances de fertilização. Entretanto, ressaltaram que devido a menor viabilidade do sêmen resfriado, a redução do intervalo inseminação-ovulação foi responsável pela maior fertilidade obtida no grupo I.

Ao trabalhar com um garanhão senil, cujo sêmen apresentava baixa viabilidade no sistema genital das éguas, Xavier (2006) observou que a associação de inseminações pré e pós-ovulação podem ser necessárias para obtenção de melhores taxas de fertilidade de forma a permitir o estabelecimento de um reservatório espermático adequado no momento da ovulação. Desta forma, quando as inseminações com sêmen fresco, pré-ovulação, foram associadas a uma inseminação pós-ovulação houve melhora nas taxas de concepção por ciclo (48h pré e pós – 85,71%; 72h pré e pós – 100%), em relação às inseminações realizadas apenas pré-ovulação (48h pré - 33,33% e 24h pré – 21,05%).

O sêmen asinino diluído e resfriado a 5°C, foi utilizado por Ferreira (1993), observando-se que o período de realização das inseminações em relação à ovulação afetou a taxa de gestação ($p < 0,05$). Desta forma, inseminações realizadas entre 24-48 horas antes da ovulação resultaram em 61,8% de concepção, que foi 88,9% quando a inseminação foi realizada até 24 horas antes

da mesma ($p < 0,05$). Inseminações realizadas até 12 horas pós-ovulação resultaram em 85,7% de concepção, não diferindo das inseminações realizadas até 24 horas pré-ovulação.

Ainda no estudo de Ferreira (1993), o efeito do intervalo inseminação – ovulação sobre a fertilidade tornou-se evidente quando da realização de apenas uma inseminação por ciclo estral. Quando a IA foi realizada até 24 horas, 85% das éguas conceberam ao passo que, quando realizada entre 24 e 48 horas pré-ovulação, 53,6% das éguas conceberam. Quando realizadas duas IAs não observou-se diferenças nas taxas de concepção.

Leite (1994) não verificou influência do intervalo entre a última inseminação e a ovulação sobre a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen fresco diluído de jumentos quando comparou intervalos entre 0-24 horas e de 24-48 horas pré-ovulação. Também Rossi (2008) avaliou o efeito do intervalo da última inseminação à ovulação, envolvendo o sêmen diluído e resfriado a 5°C, de jumentos da raça Pêga. Com palpações diárias e inseminações três vezes por semana, foram determinados quatro intervalos: éguas inseminadas até 24 horas pré-ovulação (24P), até 48 horas pré-ovulação (48P), uma inseminação 48 horas pré e outra pós-ovulação (48PP), e uma inseminação 72 horas pré e outra pós-ovulação (72PP). Em decorrência dos intervalos de 24 horas entre as palpações, as inseminações pós-ovulação foram realizadas até 24 horas após sua ocorrência. Assim as taxas de concepção obtidas foram de 46,55% para o intervalo 24P; 45,45% para o 48P; 50,70% para 48PP e de 60,00% para o 72PP, não havendo diferenças entre os grupos.

Woods et al. (1990) observaram taxas de perdas embrionárias entre os dias 15 e 40 de gestação significativamente maiores para éguas inseminadas até 24 horas pós-ovulação, em relação às inseminadas pré-ovulação com sêmen fresco (34% e 14%, respectivamente). Resultado similar foi observado por Koskinen et al. (1990), com 35,8% de perdas

embrionárias entre os dias 16 e 25 de gestação em éguas inseminadas pós-ovulação, não havendo qualquer perda em éguas inseminadas pré-ovulação. Uma possível causa para esses achados seria que a qualidade do oócito foi alterada de forma que, embora não tenha prejudicado a fertilização, influenciou sobremaneira a viabilidade embrionária. Outra possibilidade seria que o atraso na fertilização, devido ao longo intervalo da ovulação à inseminação, causaria um atraso no desenvolvimento embrionário de forma a interferir na habilidade do conceito em bloquear a luteólise. Tal proposta encontra respaldo nos achados de Woods et al. (1990), quando observou-se serem os embriões menores em éguas inseminadas pós-ovulação em relação às inseminadas pré-ovulação.

Contrastando com estudos prévios, Barbaccini et al. (1999) não observaram diferenças na taxa de perda embrionária entre éguas inseminadas 6 horas pós-ovulação e àquelas inseminadas pré-ovulação com sêmen congelado. Pode ser que os efeitos adversos da inseminação pós-ovulação não se manifestem a não ser que esta ocorra após 6 horas da ovulação.

Comparando-se os resultados obtidos por Ferreira (1993), Leite (1994) e Rossi (2008) poderia especular-se que, no sistema genital da fêmea, o sêmen asinino fresco diluído ou diluído e resfriado por até 12 horas possui maior longevidade que os espermatozoides diluídos e resfriados por 24 ou 48 horas. Assim, em casos de éguas normais, o processamento do sêmen antes da inseminação e consequentemente, sua viabilidade no sistema genital parece ser o fator mais importante a ser considerado na determinação do intervalo ideal entre inseminação – ovulação.

Em fêmeas inseminadas ou cobertas com sêmen asinino ainda não existem estudos relacionando o intervalo da cobertura/inseminação à ovulação e que possibilitem relacioná-los à incidência de perdas gestacionais.

2.1.2.4. Efeito do número de inseminações por ciclo

Ao contrário de outras espécies domésticas, as éguas possuem uma fase folicular longa, com duração do estro bastante variável. De um modo geral, a ovulação ocorre de 24 a 48 horas antes do seu término, estando, portanto, este momento mais relacionado com o fim do que com o início do estro (Pace e Sullivan, 1975). Sendo a duração do estro variável, a determinação precisa do momento de ocorrência da ovulação é dificultada nas fêmeas equinas.

Contudo, o exame contínuo, com quatro ou seis horas de intervalo, durante o período do estro poderá predizer, com relativa confiabilidade, o momento da ovulação em éguas (Kloppe et al., 1988), possibilitando a cobertura da égua o mais próximo da ovulação, de forma que tanto o gameta masculino quanto o feminino estejam viáveis no momento da fecundação (Jacob et al. 2000). Entretanto, o intervalo frequente entre palpações gera grandes desgastes aos animais e aos médicos veterinários responsáveis pelo manejo reprodutivo.

Apesar dos agentes farmacológicos indutores da ovulação serem capazes de induzir a ovulação em uma alta porcentagem de éguas, em até 48 horas após a sua administração, a amplitude de ocorrência das ovulações é grande (Barbaccini et al., 2000; Sieme et al., 2003; Berezowski et al., 2004). Assim, quando se utiliza sêmen com baixa viabilidade no sistema genital feminino, a implantação de protocolos de inseminação em tempo fixo é limitada na espécie equina, sendo que a utilização dos indutores de ovulação reduz, mas não elimina a necessidade do acompanhamento folicular frequente.

O efeito do número de inseminações artificiais sobre a fertilidade das éguas é uma preocupação bastante antiga, desde que Caslick (1937) estabeleceu que, quanto maior o número de intervenções uterinas na égua,

maior a possibilidade de infecção. No entanto, Voss et al. (1982) constataram que várias inseminações artificiais por ciclo não resultaram em contaminação do útero. Assim, a utilização de técnicas de controle microbiológico e manipulação adequada do sêmen podem eliminar a taxa de contaminação uterina (Pickett et al, 1987). Há que se enfatizar que na natureza, as éguas são cobertas repetidas vezes durante o ciclo estral, em regimes de monta natural a campo que têm se mostrado eficientes, como observado por Bristol (1982). Em um estudo conduzido pelo último autor, obteve-se uma taxa de concepção, ao primeiro ciclo, de 85%, em 20 éguas cobertas, em média 4,6 vezes por ciclo em regime de monta natural a campo.

Tradicionalmente, as éguas são cobertas ou inseminadas a partir do terceiro dia do cio, sendo o procedimento repetido a cada dois dias até o seu término. Entretanto, quando se trabalha com éguas susceptíveis a endometrite, cobertas com reprodutores de alto mérito genético, localizados a grandes distâncias das matrizes e/ou quando necessitam servir grande número de éguas durante a estação de monta, como nos condomínios de garanhões ou quando os garanhões apresentam baixa disponibilidade de doses inseminantes, o número de inseminações por ciclo deve ser reduzido.

Para que se possa reduzir o número de inseminações por ciclo, sem prejuízo da fertilidade, torna-se necessária a utilização do sêmen de reprodutores com alta viabilidade espermática até o momento da fecundação, além de se desenvolver métodos mais precisos de controle folicular, que permitam a realização das inseminações o mais próximo possível da ovulação. Como a predição do momento exato da ovulação de éguas ainda não é uma realidade, até o presente momento, a utilização de hormônios indutores (gonadotrofina coriônica humana ou deslorelina), tem auxiliado na redução do número de inseminações. Quando se opta pela realização de inseminação ou cobertura únicas, após a ovulação, palpações frequentes (a cada 6 ou 12 horas) são necessárias para que a

fecundação aconteça antes que ocorra a degeneração do oócito liberado (Koskinen et al., 1990; Woods et al., 1990)

Estudos utilizando uma única inseminação artificial por ciclo com sêmen fresco em equinos (Burwash et al., 1974; Voss et al., 1982; Pickett et al., 1987), resultaram em fertilidade mais baixa que as obtidas de éguas submetidas a um maior número de inseminações. Ao trabalharem com sêmen fresco de garanhões da raça Mangalarga Marchador, Silva Filho (1994) não verificaram diferenças de fertilidade entre os grupos utilizando diferentes números de IA/ciclo. Resultados similares foram observados por Carvalho (1994) e Valle (1997), ao utilizarem sêmen resfriado de garanhões.

No mesmo sentido, Silva Filho (1994) comparou a taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen a fresco diluído ou *in natura* e não observou diferenças entre os tratamentos quanto ao número de inseminações/ égua gestante (2,12) e número de inseminações/ égua vazia (2,61). Além disso, Palhares (1997) obteve taxas de concepção/ciclo de 42,86% (6/14), 55,26% (21/38), 47,37% (9/19) e 58,33% (7/12) para éguas inseminadas uma, duas, três e quatro vezes ou mais, respectivamente, durante o ciclo estral, sem que houvesse diferenças entre os grupos.

Em estudo posterior, Sieme et al. (2003) observaram que éguas inseminadas com dose única de sêmen resfriado de garanhões, durante o estro, apresentaram taxas de concepção similares às aquelas observadas em éguas inseminadas duas (48/85; 56,5%) ou três (20/28; 71,4%) vezes por ciclo, a intervalos de 24 horas. Entretanto, em estudo retrospectivo, éguas inseminadas com sêmen resfriado apenas uma vez por ciclo apresentaram menor taxa de nascimento (507/1622; 31,2%) que as inseminadas duas (791/1905; 41,5%), três (464/1064; 43,6%) ou mais de três vezes (314/714; 43,9%) durante o estro ($p \leq 0,001$). Ao utilizarem sêmen congelado e uma única inseminação realizada

entre 12 horas antes (31/75; 41,3%) ou 12 horas após (24/48; 50%) a ovulação, obteve-se taxa de concepção similar à observada para as éguas inseminadas duas (31/62, 50%) ou três (3/9; 33,3%) vezes, a intervalos de 24 horas (Sieme et al., 2003).

De acordo com Ginther (1992), repetidas inseminações poderiam aumentar a disponibilidade de espermatozoides no reservatório espermático no momento da ovulação. Entretanto, tal afirmativa torna-se difícil de ser sustentada diante dos resultados conflitantes da literatura tanto em relação ao número de inseminações/ciclo, quanto ao intervalo inseminação – ovulação. Pickett et al. (1987) observaram inter-relação entre essas variáveis, merecendo destaque a associação entre frequência de inseminações e a concentração espermática. De um modo geral, quando a frequência de inseminações for aumentada, o número de espermatozoides por dose poderá ser diminuído. Entretanto, como a fertilidade depende da viabilidade espermática no ambiente uterino, quando a mesma encontrar-se reduzida, a frequência e, provavelmente, o número de espermatozoides por dose inseminante deveriam ser aumentados. Por outro lado, quando a viabilidade espermática for mais longa, menor frequência e concentração espermática poderiam ser admitidas. Assim, na presença de uma concentração espermática adequada, a taxa de gestação das éguas dependerá mais do adequado intervalo IA/ovulação do que do número de inseminações artificiais por ciclo (Palhares, 1997).

No que se refere ao efeito do número de inseminação por ciclo sobre a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen asinino, a literatura é escassa. Para jumentas, Palhares et al. (1986) encontraram uma relação inversa entre o número de IAs e a fertilidade. A taxa de concepção, ao primeiro ciclo, foi de 58,3%, sendo realizadas, em média, 1,6 IAs nos ciclos positivos e 2,8 nos ciclos negativos. Em um estudo conduzido por Ferreira (1993), o número de inseminações por ciclo (1 ou 2) afetou a taxa de concepção de éguas inseminadas com sêmen asinino

resfriado a 5°C de maneira contrária à descrita por Palhares et al. (1986). Neste estudo, obteve-se uma taxa de concepção de 69,6%, para éguas inseminadas uma vez por ciclo, que apresentou-se inferior ($p < 0,01$) à obtida quando da realização de duas inseminações por ciclo (96,8%).

No que se refere à utilização do sêmen fresco diluído de asininos, Leite (1994) demonstrou que nem o momento nem a frequência de realização das inseminações, exerceram influência sobre as taxas de concepção de éguas inseminadas com sêmen fresco diluído. Discordando dos achados de Ferreira (1993), Rossi (2008) não observou efeito do número de inseminações (1, 2 ou ≥ 3) sobre a fertilidade de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído e resfriado a 5°C de asininos. As taxas de concepção por ciclo estral foram de 50,00; 62,07 e 41,03% para éguas inseminadas uma, duas ou três vezes ou mais por ciclo, respectivamente.

2.1.2.5. Fertilidade de éguas ou jumentas inseminadas com sêmen fresco, resfriado ou congelado de asininos.

Os resultados de fertilidade de éguas e/ou jumentas cobertas ou inseminadas com sêmen asinino fresco, resfriado ou congelado, obtidos por pesquisadores de todo o mundo, estão apresentados na Tabela 3. Diante deste panorama, ressalta-se, mais uma vez, a inexistência de estudos envolvendo a avaliação da fertilidade do sêmen fracionado de asininos.

Tabela 3. Fertilidade de éguas e/ou jumentas cobertas ou inseminadas com sêmen asinino fresco, diluído, resfriado ou congelado.

Autores	Tipo de Coleta	Tipo de sêmen	Diluidor	Forma de envase	Local de Deposição do sêmen	Dose inseminante	Momento da IA	Nº de IAs	Taxa de gestação (Total)
Jordão et al. (1954)	Monta Natural	Fresco	-	-	-	-	-	-	35,9% (93/259)
Krause e Grove (1967)	Total Centrifugado	Congelado	Glicose-gema-glicerol, lactose-gema-glicerol e rafinose-gema-glicerol	Pellets	-	100 pellets	Pré	1 a 4	50% (1/2)
Vieira et al. (1985)	Total Centrifugado	Congelado	Lactose – Gema – EDTA (Martin et al., 1979)	Palheta 0,5	Intracornual profunda	300 – 400 x 10 ⁶	Pós	1	66,7% (6/9)
Arruda et al. (1986)	Total Centrifugado	Congelado	Lactose – Gema – EDTA (Martin et al., 1979)	Palheta 0,5	-	-	-	-	44% (7/16)
Palhares et al. (1986)	Total	Fresco diluído	Lactose – Gema de ovo	-	Corpo do útero	2152,52x 10 ⁶ *	Até 24h pré	2,1*	57,0% - ao primeiro ciclo (8/14 jumentas)
Silva (1988)	Total	Fresco diluído	Lactose – Gema de ovo	-	Corpo do útero	200 x 10 ⁶	Pré	-	68,3 a 92,1% (214 éguas em 3 estações de monta consecutivas)
Ferreira (1993)	Total	Fresco diluído	Lactose – Gema de ovo	-	Corpo do útero	250 x 10 ⁶	Pré	1,48 *	82,70% (23/29)
		Resfriado (5°C/ até 24h)						1,27 *	80% (24/30)
		Resfriado (5°C/ entre 24 – 48h)						1,38 *	75,9% (22/29)
Leite (1994)	Total	Fresco diluído	Leite em Pó Desnatado – Glicose	-	Corpo útero	50 x 10 ⁶	Pré	-	3,44% (1/29)
						100 x 10 ⁶			20,68% (6/29)
						200 x 10 ⁶			53,12% (17/32)
						400 x 10 ⁶			70% (21/30)
						600 x 10 ⁶			67,64% (23/34)

Autores	Tipo de Coleta	Tipo de sêmen	Diluidor	Forma de envase	Local de Deposição do sêmen	Dose inseminante	Momento da IA	Nº de IAs	Taxa de gestação (Total)	
Trimeche et al. (1998)	Total/ Centrifugado	Congelado	T2 - 94 (sem desglicerolização) T2 – 94 (com desglicerolização)	Palheta 0,5	-	600 x 10 ⁶	Pré	-	0% (0/17 - jumentas) 62% (8/13 - Jumentas)	
Papa et al. (1999)	Total/ Centrifugado	Congelado	M9H	Palheta 0,5	-	800 x 10 ⁶	36 e 48h após hCG	2	66% (2/3)	
Boeta e Quintero (2000)	Total	Resfriado (4°C/ até 48h)	Leite UHT Leite em pó Desnatado – Glicose	-	Corpo útero	400 x 10 ⁶	Pré	-	76,5% (ao primeiro ciclo – 13/17) 54,5% (ao primeiro ciclo – 6/11)	
Rozas (2005)	Total	Resfriado (15°C)	Leite Desnatado	-	Corpo do útero	1000 x 10 ⁶	Até 48h pré	-	27% por ciclo (23/85 - jumentas)	
	INRA96®		47,36% por ciclo (18/38 – jumentas)							
	Total Centrifugado	Leite Desnatado	Palhetas 0,5	500 x 10 ⁶	Até 12h pré	-	21% por ciclo (6/28 - jumentas)			
	Total/ Centrifugado	Congelado					Glicose – EDTA + 2,5% DMF Glicose – EDTA + 2,5% Glicerol + CLC	0% (0/8 – jumentas)		
							Glicose – EDTA + 2,5% DMF + CLC	0% (0/7 – jumentas)		
Oliveira (2005)	Total/ Centrifugado	Congelado	MP 50 + 2%DMSO + 2% DMF MP 50 + 3% DMF MP 50 + 2% DA + 2% Glicerol MP 50 + 3% DA MP 50 + 3% Glicerol + 2% DMF MP 50 + 3%DMSO + 2% Glicerol MP 50 + 3% Glicerol + 2% DMF	Palhetas 0,5	Corpo do útero	800 x 10 ⁶	Pré e Pós	-	0% (0/8 – jumentas) 0 % (0/9 – jumentas) 0% (0/8 – jumentas) 0% (0/10 – jumentas) 0% (0/9 – jumentas) 0% (0/9 – jumentas)	
			Pós						1	0% (0/10 – jumentas)

Autores	Tipo de Coleta	Tipo de sêmen	Diluidor	Forma de envase	Local de Deposição do sêmen	Dose inseminante	Momento da IA	Nº de IAs	Taxa de gestação (Total)
Oliveira (2005)	Total/ Centrifugado	Congelado	MP 50 + 3% Glicerol + 2% DMF	Palhetas 0,5	Intracornual profunda	1600 x 10 ⁶	Pós	1	0% (0/10 – jumentas)
			MP 50 + 3% Glicerol + 2% DMF (Desglicerolização)		Intracornual profunda	800 x 10 ⁶			0% (0/10 – jumentas)
			MP 50 + 3% Glicerol + 2% DMF		Corpo do útero	800 x 10 ⁶			40% (4/10 – éguas)
Castejón (2005)	Total/ Centrifugado	Congelado	Lactose-Gema-EDTA (Martin et al., 1979)+ 2,5% Glicerol – Rediluição	Palhetas 0,5	Corpo do útero	500 x 10 ⁶	Pré	1	0% (0/9 – jumentas)
			Lactose-Gema-EDTA (Martin et al., 1979)+2,5% Glicerol – Eliminação do glicerol						11,11% (1/9 – jumentas)
Rossi (2008)	Total	Fresco diluído	Leite em Pó Desnatado – Glicose	-	Corpo do útero	400 x 10 ⁶	Pré/ Pré e pós	2,09 *	63,64% (21/33)
		Resfriado (5°C/ até 12h)	Glicina – Gema de Ovo					2,39 *	54,55% (24/44)
			Leite em Pó Desnatado – Glicose					2,01 *	52,69% (49/93)
			Glicina – Gema de Ovo					1,97*	47,06% (48/102)
Canisso (2008)	Total/ Centrifugado	Congelado	Lactose- Gema de Ovo Glicerol (Nagase e Niwa, 1964)	Palheta 0,5	Intracornual profunda	300 x 10 ⁶ (motilidade progressiva)	Pós	1	50,00% (aos 13 dias) e 10% (aos 35 dias)
			Lactose – Gema - EDTA(Martin et al., 1979)						53,33% (aos 13 dias) e 16,6% (aos 35 dias)
Vidament et al. (2005, 2009)	Total	Resfriado (4°C/ até 8h)	Leite UHT	-	Corpo do útero	200 x 10 ⁶	Até 24h pré	-	45% (9/20 - jumentas) 45% (33/73– éguas)
	Total/ Centrifugado	Congelado	INRA 82® + 2% Gema + 2,2% Glicerol	Palheta 0,5	Corpo do útero	800 x 10 ⁶	Até 24h pré	-	11% (4/38 - jumentas) 36% (18/50 - éguas)

Autores	Tipo de Coleta	Tipo de sêmen	Diluidor	Forma de envase	Local de Deposição do sêmen	Dose inseminante	Momento da IA	Nº de IAs	Taxa de gestação (Total)
Vidament et al. (2005, 2009)	Total	Fresco diluído	Leite UHT	-	Corpo do útero	400 x 10 ⁶	Até 24h pré	-	86% (6/7 – jumentas)
	Total/ Centrifugado	Resfriado (4°C/ uso imediato)	Leite UHT	-	Corpo do útero	400 x 10 ⁶	Até 24h pré	-	78% (7/9 - jumentas)
			INRA 82® + 2% Gema de Ovo						63% (5/8 – jumentas)
			INRA 82® + 2% Gema + 2,2% Glicerol						0% (0/8 – jumentas)
			INRA 82® + 2% Gema						64% (7/11 – jumentas)
		Resfriado (4°C/ 1h)	INRA 82® + 2% Gema + 1,9% Glicerol	-	Corpo do útero	400 x 10 ⁶	Até 24h pré	-	8% (1/12 – jumentas)
			INRA 82® + 2% Gema + 2,0% DMF						67% (8/12 – jumentas)
			INRA 82® + 2% Gema + 1,3% Etilenoglicol						45% (5/11 – jumentas)
			INRA 82® + 2% Gema + 2,2% Glicerol (+ Diluição pós-descongelamento)						0% (0/15 – jumentas)
			INRA 82® + 2% Gema + 2,2% Glicerol (controle)						0% (0/8 – jumentas)
	Total Centrifugado	Congelado	INRA 82® + 2% Gema + 2,2% Glicerol (centrifugação + ressuspensão após descongelamento)	Palheta 0,5	Corpo do útero	400 x 10 ⁶	Até 24h pré	-	13% (1/8 – jumentas)
			INRA 82® + 2% Gema + 2,1% Glicerol						0% (0/6 - jumentas)
			INRA 82® + 2% Gema + 2,2% DMF						11% (3/28 – jumentas)
Díaz et al. (2009)	Total	Monta Natural	-		-		-	-	32,08% (43/134)

Autores	Tipo de Coleta	Tipo de sêmen	Diluidor	Forma de envase	Local de Deposição do sêmen	Dose inseminante	Momento da IA	Nº de IAs	Taxa de gestação (Total)
Díaz et al. (2009)	Total	Fresco Diluído	ODT 3-4-2 (Glicose, Lactose, Leite desnatado, citrato de sódio)	-	Corpo do útero	250 x 10 ⁶	-	-	53,80% (14/26)
Jepsen et al. (2010)	Total/ Centrifugado	Congelado	EZ Mixin®+20% Gema de Ovo + 4% Glicerol	Palhetas 0,5	Corpo do útero	300 x 10 ⁶	Pré e Pós	2	0% (número de éguas não informado)
			EZ Mixin®+20% Gema de ovo+2% Etilenoglicol						6,3% (1/15)
			EZ Mixin®+5% Gema de ovo+2% Etilenoglicol						46,5% (20/43)
			EZ Mixin®+20% Gema de ovo+2% Etilenoglicol + 60mM β-ciclodextrina						58,3 (14/24)

* Valores médios

DMF – Dimetilformamida

CLC – complexo colesterol – ciclodextrina

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Localização, condições climáticas e período experimental

Os experimentos foram realizados na fazenda Santa Edwiges, localizada no município de Lagoa Dourada, Estado de Minas Gerais. Distanto 150 km de Belo Horizonte, situa-se a 20°54'50" de latitude S e 44°4'40" de longitude W Gr. O município está a uma

altitude média de 1124 metros e apresenta clima do tipo Cwa, caracterizado por inverno seco e verão chuvoso (de acordo com a classificação climática de Köppen-Geiger). O período experimental compreendeu o intervalo entre os meses de outubro de 2010 a fevereiro de 2011, estando os dados meteorológicos apresentados na Tabela 4.

A pluviosidade média durante o período experimental está representada no gráfico 1.

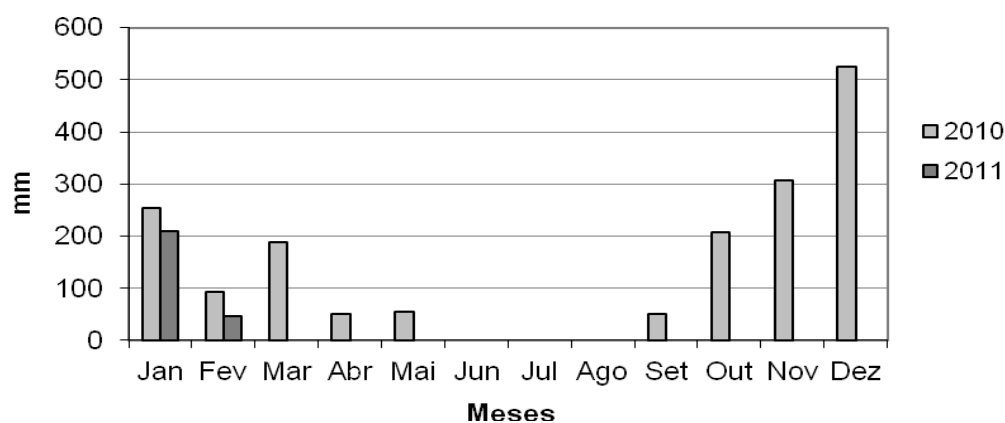
Tabela 4. Dados meteorológicos médios do período experimental.

Ano	Mês	Temperaturas médias (°C)		Insolação* (horas/mês)
		Mínima	Máxima	
2010	Outubro	15,7	26,9	4,9
	Novembro	17,1	26,5	5,6
	Dezembro	18,5	29,1	4,7
2011	Janeiro	18,1	28,1	5,5
	Fevereiro	17,6	28,4	5,7

Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) disponível em: www.agritempo.gov.br

*Média de 1961-1990. Horas de sol direto, sem obstrução de nuvens

Gráfico 1. Pluviosidade média mensal, na Fazenda Santa Edwiges, ao longo dos anos de 2010 e 2011.



3.2. Delineamento experimental

3.2.1. Experimento I. Caracterização dos jatos que compõem a fração espermática rica do ejaculado de jumentos da raça Pêga

Para este experimento foram utilizados 18 ejaculados fracionados, de cinco jumentos da raça Pêga. O número de ejaculados coletados por jumento está demonstrado na Tabela 5.

Os três primeiros jatos que compõem a fração espermática rica do ejaculado foram coletados separadamente e avaliados quanto aos parâmetros de volume, concentração

espermática por mL de sêmen, motilidade e vigor espermáticos *in natura*. Baseando-se na sequência da ejaculação, foram denominados:

Jato I – primeiro jato que compõe a fração espermática rica do ejaculado de asininos (n=18);

Jato II – segundo jato que compõe a fração espermática rica do ejaculado de asininos (n=18);

Jato III – terceiro jato que compõe a fração espermática rica do ejaculado de asininos (n=18).

Tabela 5. Distribuição dos ejaculados, por jumento, no Experimento I.

Jumento	Número de ejaculados
1	4
2	4
3	3
4	4
5	3
TOTAL	18

3.2.2. Experimento II. Efeito de diluidores e do resfriamento sobre as características físicas do sêmen de jumentos e sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas

3.2.2.1. Experimento IIa. Efeito de diluidores e do resfriamento sobre as características físicas do sêmen, avaliadas à diferentes períodos de estocagem, em contêiner proposto por Palhares (1997)

Foram utilizados para este experimento 28 ejaculados de cinco jumentos da raça Pêga, submetidos a um delineamento experimental em parcelas subdivididas, envolvendo a utilização de dois diluidores – Leite em Pó Desnatado - Glicose (LPDG – Kenney et al., 1983) e Lactose - Gema de Ovo (LGO – Nagase e Graham, 1964) modificado pela remoção do glicerol (Silva Filho et al., 1987),

e avaliação das características físicas e morfológicas do sêmen imediatamente após a coleta (fresco), após a pré-diluição (PD), pré-inseminação (PI) e às 24, 48 e 72 horas após o seu resfriamento.

Dessa forma, de cada ejaculado foram preparadas doses inseminantes de 22 mL, contendo 400×10^6 espermatozóides móveis, diluídos nos diluidores LPDG ou LGO e submetidos ao resfriamento a 5°C em contêiner proposto por Palhares (1997) por até 72 horas, caracterizando os tratamentos:

Tratamento I (EIITI) – Sêmen diluído em diluidor LPDG, sob a forma de doses inseminantes de 22 mL, contendo 400×10^6 espermatozóides móveis, resfriados e armazenados a 5°C em contêiner proposto por Palhares (1997);

Tratamento II (EIITII) - Sêmen diluído em diluidor LGO, sob a forma de doses

inseminantes de 22 mL, contendo 400×10^6 espermatozoides móveis, resfriados e armazenados a 5°C em contêiner proposto por Palhares (1997).

3.2.2.2. Experimento IIb. Taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen asinino diluído nos diluidores de Leite em Pó Desnatado – Glicose (LPDG) ou Lactose – Gema de Ovo modificado (LGO) e resfriado em contêiner proposto por Palhares (1997).

Foram utilizados 44 ciclos de 44 éguas sem raça definida, de 2,5 a 18 anos de idade, distribuídas de forma inteiramente ao acaso, utilizando-se sorteio, após agrupamento por idade (Tabela 7) e categoria reprodutiva (potra, égua solteira, parida ou no “cio do potro”; Tabela 8). As éguas foram inseminadas com sêmen diluído e resfriado de cinco reprodutores asininos (Tabela 6), nos meses de outubro e novembro de 2010, de

acordo com o grupo experimental a que pertenciam:

Tratamento I (EIITI): Éguas inseminadas até três vezes por semana, a partir de um folículo de 3,0 cm de diâmetro até a ovulação, com sêmen asinino diluído em diluidor de Leite em Pó Desnatado – Glicose (LPDG – Kenney et al, 1983), sendo a dose inseminante de 22 mL e 400×10^6 espermatozoides móveis, resfriados a 5°C e estocados por um período entre 12 e 24 horas em contêiner proposto por Palhares (1997) (n=23);

Tratamento II (EIITII): Éguas inseminadas até três vezes por semana, a partir de um folículo de 3,0 cm de diâmetro até a ovulação, com sêmen asinino diluído em diluidor de Lactose – Gema de Ovo (LGO - Nagase e Graham, 1964) sem glicerol, sendo a dose inseminante de 22 mL e 400×10^6 espermatozoides móveis, resfriados a 5°C e estocados por um período entre 12 e 24 horas em contêiner proposto por Palhares (1997) (n=21).

Tabela 6. Distribuição dos ciclos por jumento e tratamento no Experimento II.

Tratamento	Jumento					Total
	1	2	3	4	5	
EIITI	9	3	3	3	5	23
EIITII	8	3	2	2	6	21
Total	17	6	5	5	11	44

Tabela 7. Distribuição das fêmeas equinas por idade e tratamento, no Experimento II.

Tratamento	Idade (anos)				Total
	2,5 – 6,5	7,0 – 11,0	11,5 – 15,5	≥ 16	
EIITI	1	15	6	1	23
EIITII	1	11	9	0	21
Total	2	26	15	1	44

Tabela 8. Distribuição das éguas por tratamento e categoria reprodutiva no Experimento II.

Tratamento	Categoria Reprodutiva				Total
	Potras	Égua Solteira	Égua Parida	Égua no “cio do potro”	
EIITI	1	12	4	6	23
EIITII	1	8	6	6	21
Total	2	20	10	12	44

3.2.3. Experimento III. Efeito da concentração espermática por dose inseminante e do resfriamento sobre as características físicas do sêmen de jumentos e sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas

3.2.3.1. Experimento IIIa. Efeito da concentração espermática por dose inseminante sobre as características físicas do sêmen de jumentos, avaliadas a diferentes períodos de estocagem em contêiner proposto por Palhares (1997)

Para este experimento foram utilizados 72 ejaculados dos mesmos cinco jumentos da raça Pêga utilizados nos Experimentos I e II, submetidos a um delineamento experimental em parcelas subdivididas, envolvendo a utilização de duas concentrações espermáticas por dose inseminante, e a avaliação das características físicas do sêmen imediatamente após a coleta (fresco), após a pré-diluição (PD), pré-inseminação (PI) e às 24, 48 e 72 horas após o seu resfriamento.

Dessa forma, de cada ejaculado foram preparadas doses inseminantes de 22 mL, contendo 400 ou 800 x 10⁶ espermatozóides móveis, diluídos no diluidor LPDG e submetidos ao resfriamento à 5°C em contêiner proposto por Palhares (1997) por até 72 horas, caracterizando os tratamentos:

Tratamento I (EIIITI): Sêmen diluído a uma concentração de 400 x 10⁶ espermatozóides móveis por dose inseminante de 22 mL, em diluidor de Leite em Pó Desnatado – Glicose (LPDG), resfriados e armazenados à 5°C em contêiner proposto por Palhares (1997) por até 72 horas;

Tratamento II (EIIITII): Sêmen diluído a uma concentração de 800 x 10⁶ espermatozóides móveis por dose inseminante de 22 mL, em diluidor de Leite em Pó Desnatado – Glicose (LPDG), resfriados e armazenados à 5°C em contêiner proposto por Palhares (1997) por até 72 horas.

3.2.3.2. Experimento IIIb. Efeito da concentração espermática por dose inseminante sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen asinino diluído, resfriado e estocado, em contêiner proposto por Palhares (1997).

Foram utilizados 79 ciclos de 59 éguas sem raça definida, com idades entre 2,5 e 18 anos, distribuídas de forma inteiramente ao acaso, utilizando-se sorteio, após agrupamento por idade (Tabela 10) e categoria reprodutiva (potra, égua solteira, parida ou no “cio do potro”; Tabela 11). As éguas foram inseminadas com sêmen diluído e resfriado de cinco reprodutores asininos (Tabela 9), nos meses de novembro de 2010 a janeiro de 2011, de acordo com o grupo experimental a que pertenciam:

Tratamento I (EIIITI): Éguas inseminadas até três vezes por semana, a partir de um folículo de 3,0 cm de diâmetro até a ovulação, com sêmen asinino diluído em diluidor de Leite em Pó Desnatado - Glicose (LPDG – Kenney et al., 1983), utilizando-se dose inseminante de 22 mL e 400 x 10⁶ espermatozóides móveis, resfriados e estocados à 5°C em contêiner proposto por Palhares (1997) por um período entre 12 e 24 horas (n=41);

Tratamento II (EIIITII): Éguas inseminadas até três vezes por semana, a partir de um folículo de 3,0 cm de diâmetro até a ovulação, com sêmen asinino diluído em diluidor de Leite em Pó Desnatado - Glicose (LPDG – Kenney et al., 1983), utilizando-se dose inseminante de 22 mL e 800 x 10⁶ espermatozóides móveis, resfriados e estocados à 5°C em contêiner proposto por Palhares (1997) por um período entre 12 e 24 horas (n=38).

Tabela 9. Distribuição dos ciclos por jumento e tratamento, no Experimento III.

Tratamento	Jumento					Total
	J1	J2	J3	J4	J5	
EIIITI	15	5	7	6	8	41
EIIITII	15	5	6	5	7	38
Total	30	10	13	11	15	79

Tabela 10. Distribuição das fêmeas equinas por ciclo e idade, no Experimento III.

Tratamento	Idade (anos)				Total
	2,5 – 6,5	7,0 – 11,0	11,5 – 15,5	≥ 16	
EIIITI	4	23	12	1	40
EIIITII	5	19	14	1	39
Total	9	42	26	2	79

Tabela 11. Distribuição das fêmeas equinas por ciclo e categoria reprodutiva, no Experimento III.

Tratamento	Categoria Reprodutiva				Total
	Potra	Égua Solteira	Égua Parida	Égua no “cio do potro”	
EIIITI	3	12	12	14	41
EIIITII	4	9	15	10	38
Total	7	21	27	24	79

3.2.4. Manejo reprodutivo e nutricional das éguas

Foram utilizadas 44 éguas para o Experimento II e 59 éguas para o Experimento III, pertencentes a diferentes categorias reprodutivas: potras, éguas solteiras, paridas ou no “cio do potro”, com idades variando entre 2,5 e 18 anos. No início da estação reprodutiva todas as potras, éguas solteiras e paridas a partir do 6º dia pós-parto foram submetidas a avaliação ginecológica pelos seguintes métodos: avaliação da genitália externa, palpação do útero e dos ovários e avaliação ultrassonográfica¹ dos mesmos.

Durante a estação reprodutiva as éguas foram submetidas a palpação e ultrassonografia transretais a cada 2-3 dias até o surgimento de

um folículo de 2,5 cm de diâmetro em um dos ovários, quando então os procedimentos tornavam-se diários, até a ovulação. Na presença de um folículo com diâmetro igual ou superior a 3,0 cm iniciavam-se as inseminações artificiais em dias fixos (segundas, quartas e sextas-feiras) até a detecção da ovulação. As rufiações coletivas eram realizadas antes das palpações transretais, quando as éguas soltas em um curral eram submetidas à um garanhão conduzido por cabresto, introduzido no mesmo ambiente ou no curral vizinho, de forma a estabelecer um contato visual e olfatório entre macho e fêmeas (Figura 4a e 4b).

Na presença de um folículo com diâmetro igual ou superior a 3,5 cm, associado à presença de edema uterino intramural e manifestação de cio, aplicava-se 1667 UI de

¹ Ultra-som Modelo DP3300, probe 7,5mHz (Mindray)

gonadotrofina coriônica humana (hCG)² como agente indutor da ovulação. As aplicações de hCG coincidiram com os dias de inseminação (segundas, quartas ou sextas feiras).

Além da hCG, durante a estação de monta utilizou-se a prostaglandina sintética (Dinoprost Trometamina)³ como auxiliar no controle reprodutivo. As éguas que apresentaram corpo lúteo em um dos ovários, detectado por ultrassonografia, no início do acompanhamento reprodutivo ou após o diagnóstico de gestação negativo, receberam 1mL de Lutalyse® por via intramuscular.

Éguas que apresentavam acúmulo de fluido intrauterino durante o acompanhamento reprodutivo ultrassonográfico receberam 10 UI de ocitocina⁴ por via intramuscular, que era aplicada, nos dias de inseminação, no mínimo quatro horas após o procedimento. Éguas que acumularam líquido por mais de dois ciclos consecutivos foram submetidas à antibioticoterapia sistêmica, lavagem uterina com solução de Ringer Lactato⁵ aquecida a 42°C, seguida pela administração de ocitocina por via intramuscular.

Os diagnósticos de gestação foram realizados por ultrassonografia a partir do 12º dia pós-ovulação (Figura 4e). Nos casos de dúvida, quando não se visualizava a vesícula embrionária e na presença de um folículo com diâmetro igual ou superior a 3,0 cm realizava-se rufiação individual, conduzindo-se a égua ao piquete de um garanhão. Cada égua positiva foi submetida a pelo menos dois diagnósticos de gestação subsequentes, a intervalos de aproximadamente 15 dias. Éguas que reabsorveram os embriões até um período gestacional de 35 dias foram reinseminadas. As anotações foram realizadas em ficha própria (Figura 5).

Durante todo o período experimental as éguas foram mantidas a pasto onde predominava a gramínea Tifton 85 (*Cynodon spp.*), com fornecimento de água e sal mineral⁶ *ad libitum*.

3.2.5. Manejo reprodutivo e nutricional dos reprodutores

Foram utilizados para os experimentos I, II e III, cinco jumentos da raça Pêga, com idades de 5, 6, 17, 7 e 6 anos, para os reprodutores 1, 2, 3, 4 e 5, respectivamente. Os reprodutores utilizados foram os mesmos para os três experimentos.

Previamente ao início da estação de monta os reprodutores foram submetidos a exame andrológico, compreendendo a avaliação da genitália externa e das características físicas (cor, aspecto, volume, motilidade, vigor e concentração espermáticas) e morfológicas do sêmen estando estes dados apresentados na Tabela 12.

Os animais eram mantidos em piquetes individuais, onde predominava a gramínea Tifton (*Cynodon spp.*), com fornecimento diário de 1 kg de suplemento protéico-mineral⁷, sal mineralizado⁸ e água *ad libitum*.

3.2.6. Diluidores utilizados

Para o Experimento II foram utilizados os diluidores de Leite em Pó Desnatado – Glicose (LPDG – Kenney et al, 1983) e Lactose - Gema de Ovo (LGO - Nagase e Graham, 1964) modificado pela retirada do glicerol de sua formulação original (Silva Filho et al., 1987). Os ingredientes e modo de preparo estão descritos na Tabela 13.

O diluidor de Leite em Pó Desnatado – Glicose (LPDG) era preparado com antecedência, sendo armazenado em tubos tipo Falcon ou recipientes estéreis com capacidade para 50 mL, para ser congelado

² Vetecor® (Hertape Calier)

³ Lutalyse ® (Pfizer)

⁴ Placentex® (Agener União)

⁵ Fresenius®

⁶ Kromiun® (Tortuga)

⁷ Expander Minerais (Itambé®)

⁸ Master Equinos (Itambé®)

em freezer. O descongelamento era realizado no dia da coleta do sêmen, em banho-maria a 37°C (Figura 3a e 3b).

A solução de lactose a 11% acrescida dos antibióticos, utilizada para o preparo do

diluidor de Lactose – Gema de ovo modificado (LGO), era armazenada em geladeira por até dois dias, adicionando-se a gema de ovo apenas no dia da utilização do diluidor, antes da coleta do sêmen.

Tabela 12. Características seminais dos reprodutores utilizados nos Experimentos I, II e III.

Características espermáticas	Jumentos				
	J1	J2	J3	J4	J5
Motilidade (%)	80,0	90,0	90,0	90,0	80,0
Vigor (0-5)	4,0	4,0	3,5	4,0	3,5
Volume (mL)	69,0	72,0	15,0	38,0	29,0
Concentração (x10 ⁶ spz/mL)	485,0	395,0	610,0	397,5	445,0
Sptz Normais (%)	88,1	95,3	81,0	94,0	89,6
Defeitos (%)	11,9	4,7	19,0	6,0	10,4
Gota citoplasmática proximal	0,3	0,3	5,0	2,0	1,7
Gota citoplasmática distal	1,3	0,7	2,3	1,5	0,7
Peça intermediária	3,0	0,7	8,0	1,5	3,0
Cauda dobrada	1,0	1,7	1,0	0,0	2,3
Cauda fortemente dobrada	1,3	0,7	1,7	0,0	1,0
Acrossoma	0,7	0,3	0,0	0,0	0,0
Cabeça	4,3	0,0	1,0	1,0	1,7
GCP + PI	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0

Tabela 13. Composição dos diluidores utilizados nos Experimentos II e III.

Ingredientes	Leite em Pó Desnatado - Glicose (LPDG - Kenney et al, 1983)	Lactose - Gema de Ovo (LGO - Nagase e Graham, 1964) modificado (Silva Filho et al., 1987)
Leite em pó desnatado (g)	24	---
Glicose (g)	49	---
Lactose (g)	---	110
Penicilina G potássica (UI)	1.000.000	1.000.000
Estreptomicina (g)	1	1
Gema de ovo (mL)	---	200*
Água (q.s.p. mL)**	1000	1000

*Adicionava-se 200 mL de gema de ovo à 800 mL da solução preparada com os demais ingredientes.

**Água destilada, deionizada e autoclavada.

Para a separação da gema, os ovos utilizados eram lavados e desinfetados com álcool, antes de serem quebrados. Parte da clara era descartada na quebra dos ovos, sendo o restante eliminado pela passagem da gema em

papel filtro qualitativo⁹. Após a retirada de toda a clara, a gema era então rompida e misturada à solução de lactose (Figura 2).

⁹ Qualy®

A quantidade de diluidor a ser preparada era calculada de acordo com o número éguas a serem inseminadas, considerando-se o tratamento e o reprodutor a ser utilizado.

No Experimento III utilizou-se apenas o diluidor de Leite em Pó Desnatado – Glicose (LPDG – Kenney et al, 1983) preparado e armazenado da mesma forma descrita anteriormente para o Experimento II (Tabela 13).

3.2.7. Coleta, avaliação e resfriamento do sêmen

As coletas foram realizadas utilizando-se manequim proposto por Valle (1997 - Figura 1b) adaptado para a altura dos reprodutores e localizado em uma área isolada, devidamente protegida por cercas de madeira, com duas cancelas. Para auxiliar o processo de coleta e melhorar o condicionamento dos reprodutores ao manequim, uma jumenta era trazida à área descrita anteriormente e colocada paralelamente ao manequim. No momento da monta o reprodutor era estimulado a saltar sobre o manequim. Em dias chuvosos, as coletas foram realizadas utilizando-se como manequim uma fêmea, imobilizada em tronco de contenção, localizado em curral coberto, protegido do sol e da chuva (Figura 1a).

Para a coleta do sêmen utilizou-se vagina artificial modelo aberta, adaptada de Tischner et al. (1974), constituída por um cilindro de borracha espessa, com 28 cm de comprimento e 14 cm de diâmetro, com uma válvula de metal em uma das laterais. Internamente a este cilindro foi introduzida uma mucosa de látex¹⁰, de 77 cm de comprimento por 17cm de largura, sendo suas extremidades dobradas sobre o cilindro de borracha de forma a criar um compartimento a ser preenchido por água. Internamente à mucosa de látex foi introduzido um saco plástico¹¹ (30 x 50 cm), cortado nas extremidades, de forma a impedir o contato do pênis com a mucosa de látex.

Após inverter as extremidades tanto da mucosa de látex quanto do saco plástico estes foram fixados ao cilindro de borracha utilizando-se uma fita de látex em ambas extremidades (Figura 1c).

Antes da coleta, preenchia-se a vagina artificial com água a 50°C, sendo o seu interior lubrificado com vaselina¹². Para a recepção dos três primeiros jatos do ejaculado (fração rica) utilizou-se um copo plástico¹³, com diâmetro superior de 14 cm e capacidade para 2,0 L, revestido externamente por papel pardo de forma a evitar o efeito da luz solar sobre o sêmen. Em seu interior era introduzido um saco plástico estéril e descartável¹⁴, de 25 cm de largura por 35 cm de comprimento (Figura 1d).

As coletas foram realizadas em dias fixos (domingos, terças e quintas-feiras) a partir das 14 horas, e as inseminações às segundas, quartas e sextas pela manhã, de modo que o tempo de armazenamento do sêmen fosse de no mínimo 12 e no máximo 24 horas de estocagem a 5°C.

No momento da coleta do sêmen eram necessárias duas pessoas, uma responsável pela condução da vagina artificial e outra pela recepção do sêmen no copo coletor. A fração pré-espermática era descartada, sendo a identificação dos três jatos feita pela observação visual e acompanhada do sentido tátil das pulsações uretrais na passagem do sêmen durante a ejaculação (Figura 1e.). Após a coleta da fração rica, o restante do ejaculado era desprezado.

No Experimento I, os três jatos foram coletados em três recipientes distintos, de forma que cada copo coletor, devidamente identificado em seu exterior com os números 1, 2 e 3, recepcionava o primeiro, segundo e terceiro jatos, respectivamente. O responsável pela coleta dos jatos conduzia em uma das mãos os copos coletores 1 e 2; sendo o copo 3

¹⁰ Icelvet

¹¹ Martplas®

¹² Sulfal Química Ltda.

¹³ Plasútil®

¹⁴ Martplas®

conduzido pela outra mão. Assim, no momento da ejaculação os copos eram justapostos à borda externa da vagina artificial, sendo os jatos coletados em seus respectivos copos à medida que eram ejaculados.

Após a coleta dos três primeiros jatos o(s) copo(s) coletor(es) foram imediatamente encaminhados ao laboratório, sendo o saco plástico contendo o sêmen colocado em banho maria à 37°C. Uma amostra para avaliação física (motilidade e vigor) era retirada utilizando-se um tubo capilar, quando então mensurava-se o volume de cada jato da fração rica (Experimento I) ou dos três primeiros jatos conjuntamente (Experimentos II e III), utilizando-se proveta de vidro graduada previamente aquecida à 37°C. A seguir, amostras para concentração e morfologia espermáticas eram retiradas. No Experimento I, foram realizadas apenas avaliações dos jatos do sêmen *in natura*, sendo o mesmo descartado após a sua avaliação. No Experimento II, o volume de sêmen foi dividido em dois recipientes (mamadeiras plásticas de bebê), sendo feita uma pré-diluição na proporção de uma parte de sêmen para uma parte de diluidor (1:1), quando se acrescentava o diluidor LPDG ou o diluidor LGO a cada uma das mamadeiras, as quais foram mantidas à 37°C. No Experimento III, a pré-diluição do sêmen foi realizada apenas com o diluidor LPDG. Neste momento, registrava-se o intervalo da coleta do sêmen à primeira diluição. Após a diluição, o sêmen era novamente avaliado quanto à motilidade e vigor.

Para o cálculo da concentração espermática, um volume de 20 µL de sêmen era retirado e diluído em 8 mL de solução formol salina tamponada (diluição 1:400). Esta solução era então homogeneizada e utilizada para preencher uma câmara de Neubauer com o auxílio de um tubo capilar. A câmara permanecia em repouso por cinco minutos antes da contagem dos espermatozoides. Durante este período, realizava-se a avaliação física do sêmen *in natura* e do sêmen pós-diluição.

Para a avaliação da motilidade e vigor, uma gota de sêmen era colocada entre lâmina e lamínula, previamente aquecidas em mesa aquecedora à 37°C. Para tal utilizou-se avaliação microscópica de campo claro, com aumento de 100X e 400X, sendo a motilidade expressa em percentual de células móveis/campo (0 - 100). Para avaliação do vigor espermático foi utilizada uma escala subjetiva de 0 a 5, baseando-se na velocidade de deslocamento das células espermáticas nos campos avaliados, recebendo zero as células imóveis e cinco as com grande rapidez de movimentação.

A seguir, a concentração era calculada contando-se as células espermáticas nos cinco quadrados, na diagonal, do quadrante central, nos dois retículos da câmara de Neubauer, em microscopia óptica com aumento de 400 vezes. Quando a diferença entre as contagens nos dois retículos ultrapassava os 10%, o exame era refeito. O valor médio das duas contagens era multiplicado por 20×10^6 , para se obter o número de espermatozoides/mL do ejaculado.

As amostras para morfologia eram acondicionadas em ependorffs contendo solução formol salina tamponada, a serem avaliadas, posteriormente, em microscopia de contraste de fase com aumento de 1000 vezes.

3.2.8. Preparo das doses inseminantes e resfriamento do sêmen

Após a realização da concentração espermática, os cálculos eram feitos em fichas próprias (Figura 6a e 6b) de forma a se determinar o volume de sêmen necessário para se obter uma dose inseminante de 400×10^6 spz móveis, bem como o volume de diluidor necessário para completar o volume de 22 mL, correspondente a uma dose inseminante. Para este cálculo considerou-se a motilidade espermática observada após a pré-diluição do sêmen. Para o Experimento III, o volume de sêmen necessário para se obter a dose inseminante de 400×10^6 spz móveis era multiplicado por dois para se obter o

volume de sêmen necessário para a dose inseminante de 800×10^6 spz móveis.

No Experimento II, mantinha-se no banho-maria à 37°C: a) duas mamadeiras contendo o sêmen pré-diluído nos diluidores LPDG e LGO; b) dois recipientes contendo apenas os diluidores; c) os tubos de ensaio com capacidade para 22 mL onde seriam acondicionadas as doses inseminantes. As doses inseminantes correspondentes a cada tratamento eram diferenciadas pelas cores dos diluidores: branco (LPDG) e amarelo (LGO – Figura 3c). No Experimento III, utilizou-se apenas o diluidor LPDG, sendo os tubos de vidro identificados com os números correspondentes às doses inseminantes (400 ou 800×10^6).

O volume de sêmen necessário para se obter uma dose inseminante era transferido para o tubo de vidro de 22 mL utilizando-se pipeta de vidro graduada. A seguir, completava-se o volume de diluidor calculado previamente, transferindo-se o mesmo com pipeta de vidro graduada, de forma que o diluidor escorresse pela parede do tubo, sem turbulência. Neste momento, registrava-se o horário da diluição final do sêmen.

O número de doses necessárias de cada jumento e tratamento era calculado pela manhã, após a palpação das éguas, quando era possível determinar-se as éguas a serem inseminadas no dia seguinte. Além das doses a serem utilizadas para a inseminação, preparava-se uma dose inseminante adicional de cada jumento e tratamento, que era utilizada posteriormente para as avaliações nos períodos de 24 e 48 horas após a coleta do sêmen.

Após o preparo das doses inseminantes fechava-se os tubos de vidro utilizando-se filme de PVC¹⁵. As doses eram então homogeneizadas, virando-se delicadamente os tubos de duas a três vezes. O contêiner (Palhares, 1997) era preparado inserindo-se o

bloco refrigerador, e em seguida as doses inseminantes, quando então era lacrado (figura 3e). Após este procedimento, anotava-se o horário de fechamento do contêiner. Finalmente o contêiner era identificado colocando-se na tampa uma fita com o nome do reprodutor e a data da coleta do sêmen, permanecendo fechado até o momento das inseminações. Ressalta-se que, no presente experimento, o bloco refrigerador era trocado a cada 24 horas de armazenamento do sêmen.

O contêiner proposto por Palhares (1997) é composto por seis orifícios laterais, onde eram inseridos os tubos de vidro contendo as doses inseminantes, e um orifício central, de diâmetro maior onde era inserido o bloco refrigerador. O orifício central comunica-se com os laterais, dispostos de forma concêntrica, através de 14 orifícios de 0,7 cm de diâmetro (Figura 3d).

O bloco refrigerador do contêiner constitui-se de um cilindro medindo 15 cm de comprimento, 7,5 cm de diâmetro e 0,2 mm de espessura, fechado nas extremidades e confeccionado a partir de uma liga de cobre/latão (Figura 3d). Como solução refrigeradora utilizou-se Cryogel¹⁶, num volume de 600 mL e mantido a -20°C por, no mínimo, 36 horas.

Segundo Palhares (1997) o contêiner proporciona taxas rápidas de resfriamento (-0,48°C/min) entre 37-18°C, taxas lentas (0,07°C/min) entre 18-8°C, considerada a faixa crítica de choque pelo frio (Kayser et al., 1992), e taxas lentas (-0,01°C/min) entre 8-5,6°C; com a estabilização da temperatura se dando após transcorridas seis horas do início do resfriamento. A temperatura mantém-se estável por 24 horas de armazenamento sem a troca do bloco refrigerador.

A abertura do contêiner eleva em 1,2°C a temperatura do sêmen resfriado (Palhares, 1997). Assim, os procedimentos que envolviam a abertura do contêiner como a troca do bloco refrigerador bem como a

¹⁵ Boreda; filme de PVC transparente – Alumipack Indústria de Embalagens Ltda.

¹⁶ 3M do Brasil Ltda.

retirada das doses inseminantes eram realizadas de maneira mais rápida possível, sendo que, para retirada das doses inseminantes, abria-se a tampa somente o necessário para a passagem do tubo de vidro. De um modo geral, os tubos contendo as doses destinadas às avaliações eram armazenadas em um contêiner distinto daquele contendo as doses destinadas às inseminações, de forma a reduzir o número de aberturas do contêiner e a elevação da temperatura durante o armazenamento do sêmen.

3.2.9. Avaliação do sêmen

Para os Experimentos II e III, a primeira avaliação física foi realizada no sêmen à fresco, correspondendo ao tempo zero, sendo esta avaliação independente do tratamento ao qual o sêmen seria submetido. Imediatamente após a pré-diluição do sêmen, realizou-se a segunda avaliação, correspondente ao período após a pré-diluição (PD). Como no Experimento III utilizou-se apenas o diluidor LPDG, esta avaliação foi comum aos tratamentos I e II.

Antes das inseminações, realizaram-se as avaliações das doses inseminantes de cada jumento e tratamento. As inseminações foram realizadas na manhã seguinte à coleta do sêmen, o que proporcionava um tempo de estocagem de 12 a 24 horas.

O contêiner era aberto e uma sonda uretral nº14 inserida no tubo contendo a dose inseminante destinada às avaliações posteriores (24, 48 e 72 horas após a colheita do sêmen). O contêiner era novamente tampado deixando apenas a abertura necessária para a passagem da sonda. Uma seringa de 6 mL era acoplada à sonda, de forma a homogeneizar o sêmen enchendo e esvaziando-se a seringa por 10 vezes (Figura 3f). Uma amostra de 2 mL era transferida para um ependorff e colocada no banho maria a 37°C. A seguir, realizava-se a avaliação física do sêmen (motilidade e vigor), e coletavam-se amostras para a morfologia espermática, registrando-se o horário das avaliações.

Para as avaliações subsequentes (24, 48 e 72 horas após a coleta do sêmen), o procedimento foi realizado conforme descrito para as avaliações pré-inseminação. Assim, os contêineres eram abertos na mesma ordem da coleta do sêmen dos jumentos, sendo as amostras dos dois tratamentos de um mesmo animal retiradas e avaliadas conjuntamente. Desta forma, o tempo transcorrido entre a coleta do sêmen e sua avaliação foi o mesmo para ambos os tratamentos, diferindo, entretanto, entre os períodos de avaliação (Tabela 14).

Tabela 14. Intervalo médio real, em horas, entre a coleta e a avaliação do sêmen nos diferentes períodos.

Experimento	Períodos de Avaliação do sêmen				
	PD (min.)	Pré-IA	24h	48h	72h
II	3,41	16,10	23,37	46,18	69,66
III	2,92	16,25	23,11	44,67	71,45
Total	3,17	16,18	23,24	45,43	70,56

PD = após a pré-diluição; Pré-IA = pré inseminação artificial.

3.2.10. Inseminações artificiais

Quando da realização das inseminações, a região perineal das éguas era higienizada utilizando-se água e sabão de côco e seca com

papel toalha. O contêiner era aberto para retirada da dose inseminante e cada dose a ser utilizada era colocada em uma seringa descartável de 20 mL, após homogeneização do sêmen resfriado e estocado no contêiner,

em tubos de vidro de 22 mL. A seguir, o inseminador vestia a luva invertida e conduzia a pipeta acoplada a seringa de 20 mL contendo o sêmen. A mão era introduzida de forma a proteger a extremidade da pipeta durante a passagem pela cavidade vaginal. Finalmente, a pipeta era direcionada a passar pelo orifício externo do cérvix, até alcançar o corpo do útero onde o sêmen era depositado (Figuras 4c e 4d). Após a deposição do sêmen a seringa era preenchida com 5 mL de ar e novamente acoplada à pipeta de forma a empurrar o sêmen residual da mesma. Em seguida a mão era retirada protegendo a pipeta, sendo o horário da inseminação anotado na ficha de cada égua.

As doses inseminantes destinadas às avaliações posteriores permaneciam acondicionadas nos contêineres e submetidas às avaliações subsequentes às 24 e 48h após a coleta do sêmen, como descrito anteriormente para as avaliações pré-inseminação.

3.2.11. Análises estatísticas

As análises estatísticas foram processadas utilizando-se do pacote estatístico Statistical Analysis System, versão 5 - Microsoft® (SAS, 1999), sendo adotado o nível de significância de 95% ($p < 0,05$) e utilizando a rotina General Linear Models (GLM) para análise das variáveis. Os valores foram expressos em média $\pm$ erro padrão da média.

O modelo estatístico adotado para o Experimento I envolveu o efeito do jumento, do jato, bem como da interação jato x jumento sobre as características seminais avaliadas. Já nos Experimentos IIa e IIIa, o modelo experimental avaliou os efeitos do jumento, do tratamento (diluidor ou concentração espermática/dose inseminante), do período de avaliação, bem como das interações jumento x tratamento, jumento x período e jumento x tratamento x período, sobre as características físicas do sêmen (motilidade e vigor espermáticos).

Os valores obtidos para as motilidades do sêmen a fresco e diluído foram transformados

em arco seno $\sqrt{\%}$ antes de serem submetidos às análises. As variáveis quantitativas foram analisadas utilizando-se o procedimento GLM. Para a comparação de duas médias utilizou-se o t de Student e, para três ou mais médias, utilizou-se o Teste de Student-Newman-Keuls (SNK).

Para a variável vigor espermático, utilizou-se análise não paramétrica, sendo o teste de Kruskal-Wallis utilizado para a comparação de mais de duas médias (jatos dentro de jumento, e jato entre jumentos) e o teste de Wilcoxon para a comparação das médias, duas a duas.

Os resultados dos Experimentos IIb e IIIb foram apresentados considerando-se dois tipos de parâmetros, de acordo com o proposto por Valle (1997), a saber, os parâmetros de controle e os parâmetros de resultados. Assim, definem-se como parâmetros de controle aqueles que prestam informação sobre a homogeneidade dos tratamentos, não constituindo em si resultados dos experimentos. Tais parâmetros envolveram: idade das éguas (anos), volume de sêmen/dose inseminante (mL), volume de diluidor/dose inseminante (mL), número de espermatozoides/dose inseminante, intervalo coleta-pré-diluição (min.), intervalo coleta-diluição final (min.), intervalo coleta – resfriamento (min.), intervalo coleta-inseminação artificial (h) e número de IAs/ciclo. Os parâmetros de resultados traduzem os resultados dos experimentos e incluíram: taxa de concepção/ciclo e ciclos/concepção.

As variáveis quantitativas (idade das éguas, volume de sêmen/dose inseminante, volume de diluidor/dose inseminante, número de espermatozoides/dose inseminante, intervalo coleta-pré-diluição, intervalo coleta-diluição final, intervalo coleta – resfriamento e intervalo coleta-inseminação artificial) foram submetidas ao procedimento GLM, avaliando-se os efeitos do jumento, do tratamento e da interação jumento x tratamento sobre as mesmas. Para a comparação de até duas médias utilizou-se o

Teste t de Student e, para a comparação de mais de duas médias o Teste de Student-Newman-Keuls (SNK). Para a variável número de IAs/ciclo, de natureza não paramétrica, utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis quando da comparação de mais de duas médias e de Wilcoxon para a comparação de duas médias.

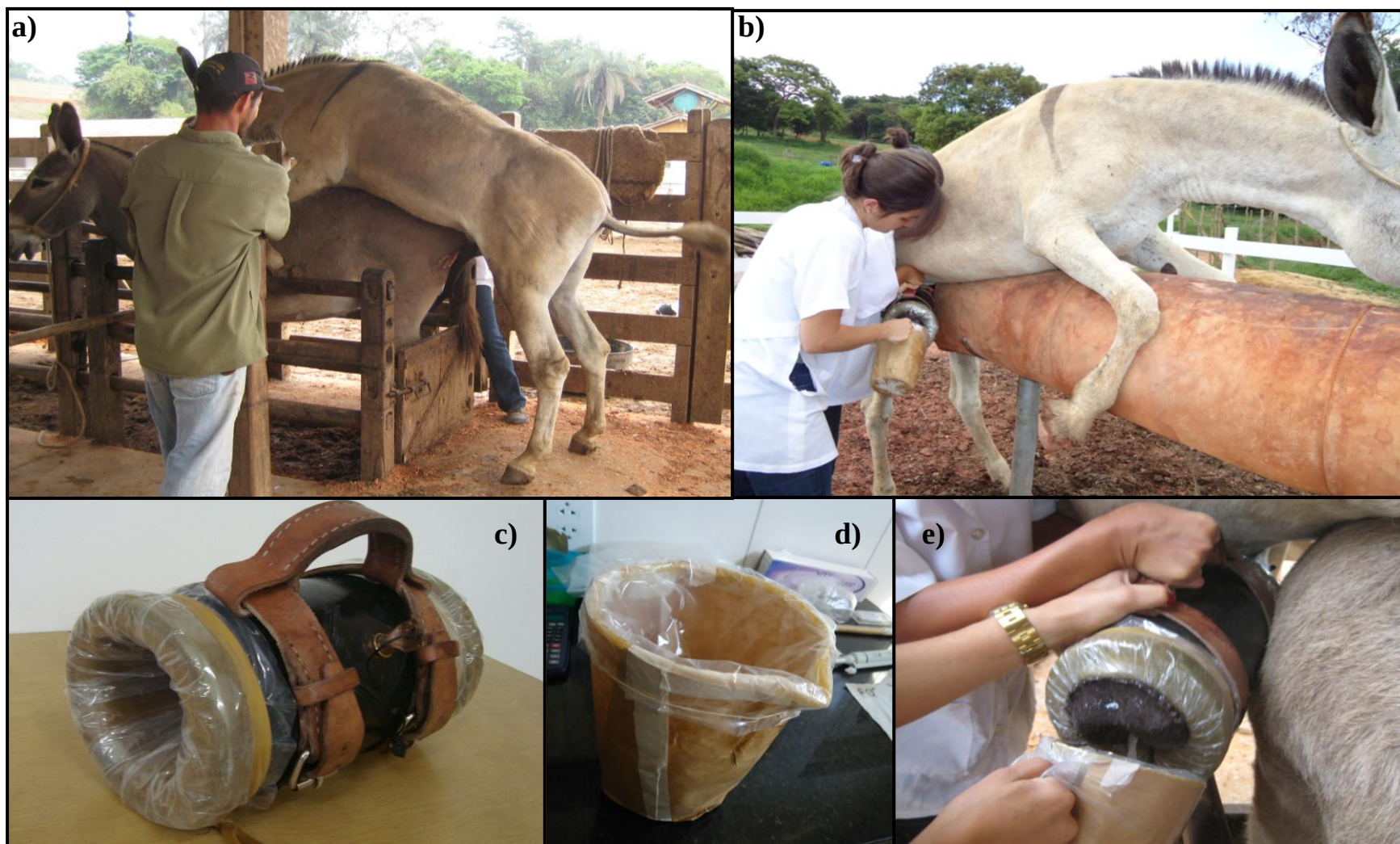


Figura 1. a) Coleta do sêmen utilizando-se jumenta imobilizada em tronco de contenção; b) coleta do sêmen em manequim; c) vagina artificial aberta; d) copo coletor; e) recepção dos jatos no copo coletor.

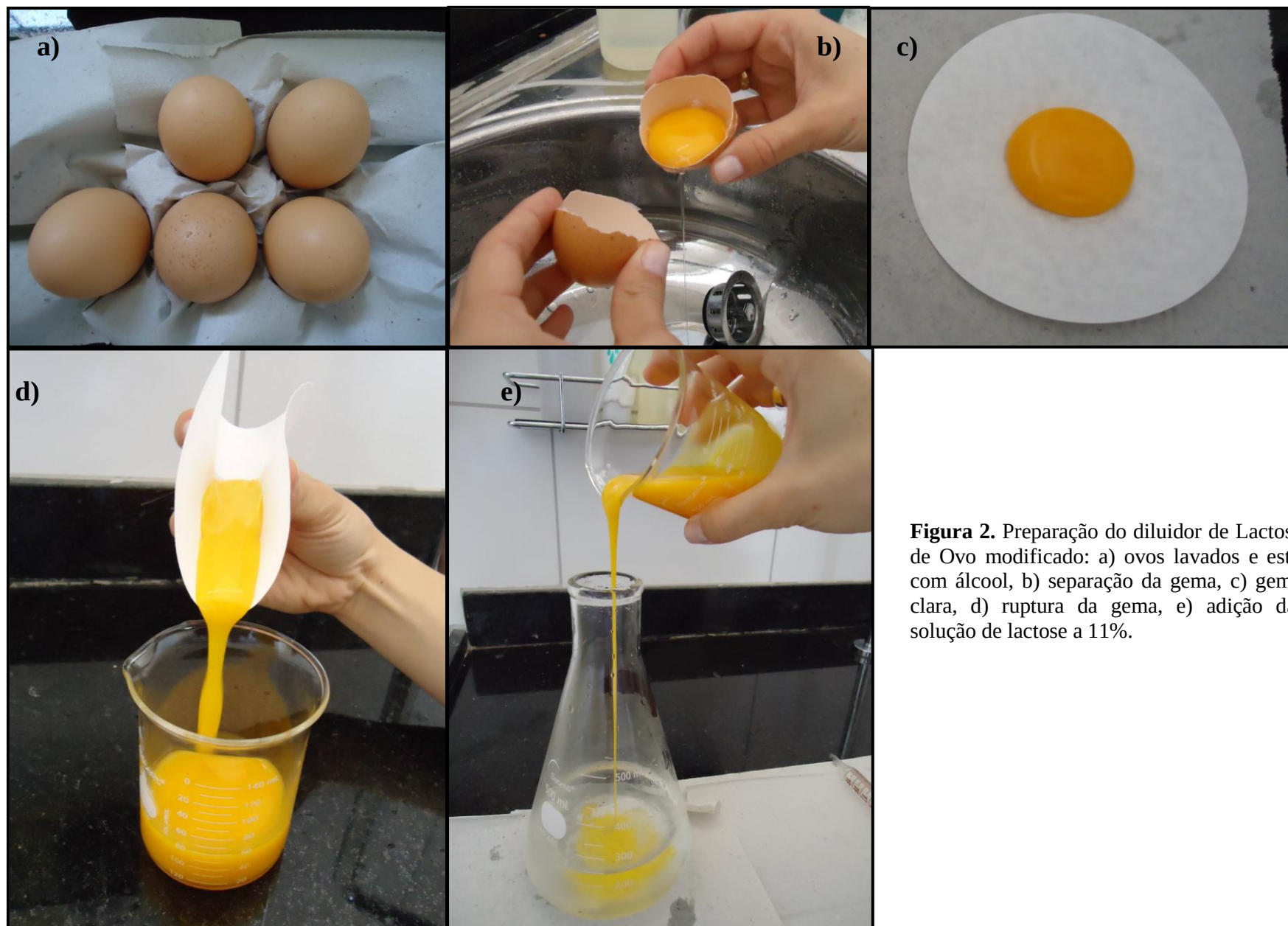


Figura 2. Preparação do diluidor de Lactose – Gema de Ovo modificado: a) ovos lavados e esterelizados com álcool, b) separação da gema, c) gema livre de clara, d) ruptura da gema, e) adição da gema à solução de lactose a 11%.

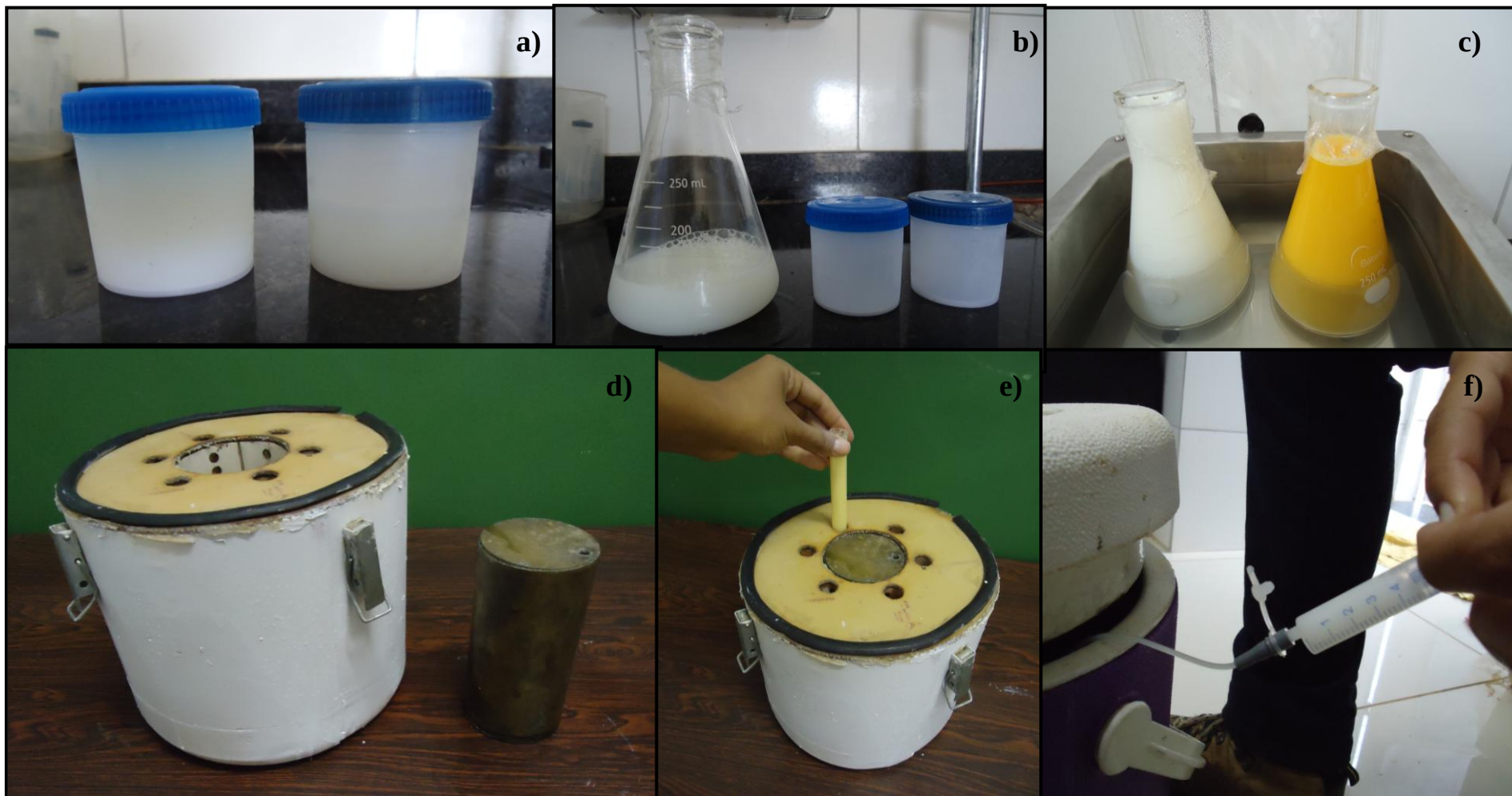


Figura 3. a) e b) recipientes estéreis para armazenamento do diluidor LPDG; c) diluidores LPDG (branco) e LGO (amarelo) prontos para utilização; d) contêiner proposto por Palhares (1997) e bloco refrigerador; e) inserção do tubo de vidro contendo a dose inseminante no contêiner; f) homogeneização das amostras previamente às avaliações.



Figura 4. a) Garanhão introduzido no recinto onde encontravam-se as éguas; b) garanhão no curral vizinho ao das éguas permitindo contato físico entre os animais; égua manifestando cio; c e d) inseminação artificial com sêmen resfriado; e) diagnóstico de gestação, por ultrassonografia, aos 13 dias pós-ovulação.

Figura 5. Ficha de controle reprodutivo individual das éguas.

Égua: _____	Idade: _____	Data do Parto: _____	Sexo do produto: _____
Reprodutor: _____	Experimento: _____	Tratamento: _____	

Inseminações:

Data									
Horário									

Data									
Cio									
Útero/ cervix									
Ovário Direito									
Ovário Esquerdo									

DIAGNÓSTICO DE GESTAÇÃO

DATA	ACHADOS

Figura 6. a) Ficha de controle do comportamento sexual do jumento e avaliação física do sêmen a fresco, diluído e resfriado, utilizada no Experimento II.

Reprodutor: _____ Data: _____ Nº do ejaculado: _____
 Hora: _____

Nº de montas/ejaculado: _____
 Volume (ml): _____ Cor/ aspecto: _____

	LPDG	LGO
<u>Fresco:</u>	Mot (%): _____ Vigor: _____	Mot (%): _____ Vigor: _____
<u>Diluído:</u>	Mot (%): _____ Vigor: _____	Mot (%): _____ Vigor: _____

- Cálculo concentração/ volume de sêmen e diluidor
 $\frac{\text{_____}}{1^{\text{a}} \text{ C}} + \frac{\text{_____}}{2^{\text{a}} \text{ C}} = \frac{\text{_____}}{2} = \text{_____} \times 20 = \text{_____} \times 10^6 \text{ sptz/ml}$

- móveis por ml ([] x mot) = _____ x _____ = _____ x 10⁶ sptz móveis/ml

- vol. sêmen (ml) = $\frac{400}{\text{móveis/ml}} = \frac{400}{\text{_____}} = \text{_____} \text{ ml}$

- vol. diluidor(ml) = 22 – vol. sêmen = _____

- Nº doses/ejaculado: _____

- Intervalo coleta – diluição: _____ Diluição final: _____

- Hora resfriamento: _____

AVALIAÇÕES:

Tempo de armazenamento	LPDG		LGO	
	Mot (%)	Vigor	Mot (%)	Vigor
1ª (___ h)				
24h				
48h				
72h				

OBSERVAÇÕES

Figura 6. b) Ficha de controle do comportamento sexual do jumento e avaliação física do sêmen a fresco, diluído e resfriado, utilizada no Experimento III.

Reprodutor: _____ Data: _____ N° do ejaculado: _____
 Hora: _____

N° de montas/ejaculado: _____
 Volume (ml): _____ Cor/ aspecto: _____

Fresco: Mot (%): _____ Vigor: _____
Diluído: Mot (%): _____ Vigor: _____

- Cálculo concentração/ volume de sêmen e diluidor

$$\frac{\text{_____}}{1^{\text{a}} \text{ C}} + \frac{\text{_____}}{2^{\text{a}} \text{ C}} = \frac{\text{_____}}{2} = \text{_____} \times 20 = \text{_____} \times 10^6 \text{ sptz/ml}$$

- móveis por ml ([] x mot) = _____ x _____ = _____ x 10⁶ sptz móveis/ml

- vol. sêmen (ml) = $\frac{400}{\text{móveis/ml}}$ = $\frac{400}{\text{_____}}$ = _____ ml (400)= _____ (800)= _____

- vol. diluidor(ml) = 22 – vol. sêmen = _____

- N° doses/ejaculado: _____

- Intervalo coleta – diluição: _____ Diluição final: _____

- Hora resfriamento: _____

AVALIAÇÕES:

Tempo de armazenamento	400		800	
	Mot (%)	Vigor	Mot (%)	Vigor
1ª (___ h)				
24h				
48h				
72h				

OBSERVAÇÕES

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Experimento I. Caracterização dos jatos que compõem a fração espermática rica do ejaculado de jumentos da raça Pêga

Objetivando-se caracterizar os jatos que compõem a fração rica em espermatozoides

do ejaculado de jumentos da raça Pêga, informação até então indisponível na literatura, foram realizadas coletas fracionadas que possibilitaram a coleta dos três primeiros jatos separadamente, estando as características espermáticas avaliadas, por jumento, apresentadas na Tabela 15.

Tabela 15. Características espermáticas dos três jatos oriundos da fração rica do ejaculado de jumentos da raça Pêga, submetidos à coleta fracionada do sêmen.

Jumentos	Ordem do Jato	Características espermáticas			
		Volume (mL)	Concentração ($\times 10^6$ spz/mL)	Motilidade (%)	Vigor (0-5)
1	1	7,75 $\pm$ 1,91 ^{ABC}	1115,00 $\pm$ 124,21	85,00 $\pm$ 6,10	5,00 $\pm$ 0,29 ^A
	2	4,13 $\pm$ 1,91 ^{ABC}	907,50 $\pm$ 124,21	85,00 $\pm$ 6,10	4,88 $\pm$ 0,29
	3*	6,13 $\pm$ 1,91 ^{ABC}	210,00 $\pm$ 124,21	62,50 $\pm$ 6,10	3,63 $\pm$ 0,29
2	1	13,75 $\pm$ 1,91 ^{AB}	1105,00 $\pm$ 124,21	85,00 $\pm$ 6,10	5,00 $\pm$ 0,29 ^A
	2	7,00 $\pm$ 2,20 ^{ABC}	575,00 $\pm$ 124,21	83,75 $\pm$ 6,10	4,88 $\pm$ 0,29
	3	5,50 $\pm$ 1,91 ^{ABC}	177,50 $\pm$ 124,21	80,00 $\pm$ 6,10	4,63 $\pm$ 0,29
3	1	3,60 $\pm$ 2,70 ^{ABC}	933,33 $\pm$ 143,42	83,33 $\pm$ 7,04	4,50 $\pm$ 0,33 ^{AB}
	2	3,75 $\pm$ 2,70 ^{ABC}	830,00 $\pm$ 143,42	80,00 $\pm$ 7,04	4,50 $\pm$ 0,33
	3	4,00 $\pm$ 2,70 ^{ABC}	400,00 $\pm$ 143,42	78,33 $\pm$ 7,04	4,33 $\pm$ 0,33
4	1	4,88 $\pm$ 1,91 ^{ABC}	1020,00 $\pm$ 124,21	87,50 $\pm$ 6,10	5,00 $\pm$ 0,29 ^A
	2	14,50 $\pm$ 1,91 ^A	745,00 $\pm$ 124,21	83,75 $\pm$ 6,10	5,00 $\pm$ 0,29
	3	7,63 $\pm$ 1,91 ^{ABC}	370,00 $\pm$ 124,21	81,25 $\pm$ 6,10	4,88 $\pm$ 0,29
5	1	2,55 $\pm$ 2,70 ^{BC}	480,00 $\pm$ 143,42	75,00 $\pm$ 7,04	4,17 $\pm$ 0,33 ^B
	2	1,15 $\pm$ 2,70 ^C	553,33 $\pm$ 143,42	80,00 $\pm$ 7,04	4,33 $\pm$ 0,33
	3	3,80 $\pm$ 2,70 ^{ABC}	273,33 $\pm$ 143,42	73,33 $\pm$ 7,04	4,00 $\pm$ 0,33

^{A,B,C} Médias acompanhadas por letras diferentes na coluna para o volume de sêmen, diferem entre si ($p < 0,05$).

^{A,B} Médias acompanhadas por letras diferentes na coluna para o vigor espermático, diferem entre si ($p < 0,05$).

*Presença de gel no terceiro jato em uma das amostras avaliadas.

Quanto às características de coloração e aspecto do sêmen, observaram-se para os três jatos avaliados, coloração branca e aspecto leitoso, sendo que os mesmos não diferiram entre si quanto a estes parâmetros. De um modo geral, após a coleta dos três jatos que compunham a fração rica, observou-se a eliminação de material gelatinoso, característico da secreção das glândulas

vesiculares. Em apenas um dos 18 ejaculados coletados, observou-se presença da fração gel no terceiro jato. Assim, enquanto a fração rica do ejaculado de garanhões pode ser composta de três a seis jatos (Kosiniak, 1975), observou-se, no presente experimento, que a fração rica em espermatozoides foi composta por três jatos em 17 dos 18 ejaculados coletados, similarmente ao que foi descrito

por Mann et al. (1963). Diante destes resultados é possível que a fração rica do ejaculado seja composta pelos três jatos coletados, entretanto a avaliação do restante do ejaculado seria necessária para se confirmar esta hipótese.

Para a característica de volume de sêmen (mL), considerando-se como fontes de variação o jato e o jumento, não se observou efeito do jato, mas sim do jumento sobre a mesma. Além disso, observou-se interação entre jumento e jato sobre esta variável. Desta forma, para os jumentos 1, 2 e 3, o volume de sêmen não foi influenciado ($p < 0,05$) nem pelo jato nem pelo jumento. Entretanto, o jato dois, do jumento 4, apresentou um volume superior ($14,50 \pm 1,91$ mL; $p < 0,05$) aos dos jatos um ($2,55 \pm 2,70$ mL) e dois ($1,15 \pm 2,70$ mL) do jumento 5. Também, neste aspecto, o jato um do jumento 2 diferiu ($p < 0,05$) do jato dois do jumento 5. No experimento realizado por Mann et al. (1963), o volume das três porções que constituíram a fração rica do ejaculado de jumentos, apresentaram volumes de 9, 17 e 9 mL, respectivamente. Comparados com os resultados do presente experimento, estes volumes foram superiores. Deve-se ressaltar a utilização de apenas dois indivíduos no trabalho conduzido por estes autores, sem descrição do número de ejaculados utilizados e, além disso, a diferença racial entre os reprodutores utilizados por Mann et al. (1963) e os utilizados no presente experimento.

A motilidade espermática não sofreu influência ($p > 0,05$) de jatos nem dos jumentos utilizados, variando de $75,00 \pm 7,04$ a $87,50 \pm 6,10\%$ para os espermatozóides oriundos do primeiro jato, de $80,00 \pm 7,04$ a $85,00 \pm 6,10\%$ para os do segundo jato, e de $62,50 \pm 6,10$ a $81,25 \pm 6,10\%$ para os oriundos do terceiro jato. Apesar de não diferir ($p > 0,05$) das demais médias, a menor motilidade foi observada no terceiro jato do jumento 1 (62,50%), exatamente o jato em que foi observada presença de gel. Assim,

pode ter havido uma relação entre a presença de gel e a redução da motilidade neste jato. Observou-se também uma tendência de redução da motilidade do primeiro para o terceiro jato, para todos os jumentos, embora não tenham sido observadas diferenças estatísticas para esta característica entre jatos nem entre jumentos.

O vigor espermático não diferiu ($p > 0,05$) entre os jatos, para um mesmo jumento. Entretanto, considerando-se apenas o jato um da fração espermática rica, foram observadas diferenças entre os indivíduos. Assim, os espermatozóides oriundos do primeiro jato, dos jumentos 1, 2 e 4, apresentaram vigor superior ($p < 0,05$) ao observado para os oriundos do mesmo jato pertencente ao jumento 5. A média de vigor espermático registrada para o jato um, do jumento 3, foi similar ($p > 0,05$) às dos jumentos 1, 2, 4 e 5 (Tabela 15). Não houve diferenças entre os jumentos, quanto ao vigor espermático, para os jatos dois e três. Vale ressaltar ainda que, considerando-se todos os jatos, oriundos de todos os jumentos, observou-se, também aqui, uma menor média para o vigor espermático ($3,63 \pm 0,29$) no terceiro jato do jumento 1, no qual identificou-se a presença de gel em uma das quatro amostras coletadas. Da mesma forma citada anteriormente, para a motilidade espermática, observou-se uma tendência de redução do vigor espermático do primeiro para o terceiro jato, independentemente do jumento, embora sem que houvesse diferenças estatísticas entre eles.

No que diz respeito à concentração espermática/ jato, não se observou efeito do jumento sobre esta variável, embora o do jato tenha sido significativo ($p < 0,05$). Além disso, não houve interação entre jumento e jato para esta variável, o que permitiu o agrupamento das médias, de forma a estabelecer os valores da concentração espermática por jato, independentemente do jumento, que estão devidamente apresentados na Tabela 16.

Tabela 16. Concentração espermática por jato da fração rica do ejaculado, independentemente do jumento.

Ordem do jato	Concentração espermática ($\times 10^6$ espermatozoides/mL)
1	955,56 $\pm$ 64,15 ^A
2	725,56 $\pm$ 64,15 ^B
3	280,56 $\pm$ 64,15 ^C

^{A,B,C} Médias acompanhadas por letras diferentes na coluna para a concentração espermática, diferem entre si ($p < 0,05$).

Observou-se no presente experimento que, independentemente do jumento, os três jatos coletados apresentaram concentração espermática decrescente (Tabela 16). Assim, a maior média para a concentração espermática foi observada para o primeiro jato (955,56 $\pm$ 64,15 espermatozoides/mL de sêmen), seguida pela do segundo jato (725,56 $\pm$ 64,15 espermatozoides/mL de sêmen) e, finalmente, pela menor concentração associada ao terceiro jato (280,56 $\pm$ 64,15 espermatozoides/mL de sêmen), sendo que as três diferiram ($p < 0,05$) entre si. Também Mann et al. (1963) relataram concentrações espermáticas decrescentes para as porções que compunham a fração rica do ejaculado de jumentos, sendo que estas variaram de mais de 400 $\times 10^6$ spz/mL, para o primeiro jato, à aproximadamente 200 $\times 10^6$ spz/mL para o terceiro jato, apresentando o jato dois concentração espermática intermediária. Observou-se que, no presente experimento, as concentrações dos jatos um e dois foram superiores às descritas por Mann et al. (1963). Entretanto, sabe-se existir relação inversa entre o volume e a concentração espermática do ejaculado, sendo que os volumes obtidos por estes autores foram superiores aos obtidos no presente experimento. Além disso, variações nas características físicas do sêmen podem ser atribuídas às diferenças raciais. Observou-se ainda, que as concentrações espermáticas dos jatos um e dois da fração rica, superaram em muito, àquelas descritas por Rossi (2008), de 198,71 $\times 10^6$ spz/mL, e Morais et al. (1994b), de 444,11 $\pm$ 182,72 $\times 10^6$ spz/mL, correspondentes às concentrações do ejaculado total de jumentos da mesma raça.

Conclui-se então, que a fração rica do ejaculado de jumentos da raça Pêga, no presente experimento, caracterizou-se por três jatos de alta qualidade espermática, similares entre si para as variáveis motilidade e vigor espermáticos e muito diferentes quanto à concentração espermática. Destaca-se a alta concentração de espermatozoides/mL de sêmen nos jatos um e dois, que, provavelmente, responderam pela maior proporção dos espermatozoides totais do ejaculado. O volume do ejaculado não diferiu entre os jatos de um mesmo jumento, embora tenha sofrido influência do jumento.

4.2. Experimento II. Efeito de diluidores e do resfriamento sobre as características físicas do sêmen de jumentos e sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas

4.2.1. Experimento IIa. Efeito de diluidores e do resfriamento sobre as características físicas do sêmen, avaliadas a diferentes períodos de estocagem, em contêiner proposto por Palhares (1997).

4.2.1.1. Características físicas do sêmen fracionado *in natura* e a fresco diluído de jumentos.

No Experimento II foram realizadas 28 coletas de cinco jumentos da raça Pêga, durante a estação reprodutiva, estando os dados referentes ao número de montas por ejaculado, características físicas do sêmen e número de doses inseminantes produzidas por

ejaculado dos jumentos apresentados na Tabela 17.

Verifica-se na Tabela 17, que em todos os parâmetros avaliados, foram observadas diferenças ($p < 0,05$) entre os reprodutores. Em equinos, Mann et al. (1963) e Pickett et al. (1970) descreveram variações significativas nos parâmetros físicos do sêmen entre indivíduos, bem como entre ejaculados de um mesmo indivíduo. Também Rossi (2008) observou grande variação individual entre jumentos da raça Pêga, quanto às diferentes características seminais avaliadas, tais como concentração espermática, concentração de espermatozóides móveis, número total de espermatozóides por ejaculado e número total de espermatozóides móveis por ejaculado.

Em relação ao comportamento sexual dos reprodutores utilizados no presente experimento, observou-se que o número de montas por ejaculado diferiu ($p < 0,05$) entre o jumento 4 e os demais, sendo superior para este reprodutor. Entretanto, deve-se ressaltar a utilização de um pequeno número de ejaculados (dois) deste animal, o que pode ter contribuído para a alta média observada.

São escassas, na literatura, publicações que caracterizaram a fração rica em espermatozóides de ejaculados de jumentos. No presente experimento, observou-se que o volume desta porção do ejaculado variou de 8,60 a 35,50 mL, com média de 18,29 mL, sendo inferior ao volume do ejaculado total descrito por Moraes et al. (1994b), de $59,88 \pm 15,54$ mL, e Canisso et al. (2010), de $47,30 \pm 28,70$ mL, como era de se esperar. Trimeche (1996) observou em jumentos da raça Poitou frações ricas com volumes variando de 6 a 23 mL, variação bem menor que a observada no presente experimento. Para uma fração rica do ejaculado de jumentos, composta pelos dois primeiros jatos do mesmo, Mello (1998) obteve volumes variando entre 9,72 e 47,00 mL. Apesar da fração rica, no presente experimento, incluir o terceiro jato do ejaculado, a variação quanto ao volume desta fração aproxima-se da

descrita por Mello (1998) para os dois primeiros jatos.

Comparando-se esta variável entre os cinco jumentos utilizados como doadores de sêmen, observa-se que o jumento 2 respondeu pela maior média observada, que foi superior ($p < 0,05$) às dos demais jumentos. A segunda maior média para volume foi observada para o jumento 4, que apresentou-se inferior ($p < 0,05$) à do 2 e superior à do jumento 3, embora não diferisse ($p > 0,05$) das apresentadas pelos jumentos 1 e 5, que por sua vez não diferiram entre si. Observou-se, durante a realização deste experimento, que as variações no volume da fração coletada estiveram mais relacionadas ao indivíduo do que ao tempo de estimulação sexual antes da coleta do sêmen.

Em relação à motilidade espermática média total (escala de 0-100%) para o sêmen *in natura*, o valor médio registrado no presente experimento ($86,61 \pm 0,89\%$) para a fração rica foi superior aos descritos por Moraes et al. (1994b), Ferreira (1993), Rossi (2008) e Canisso et al. (2010) para o ejaculado total de jumentos da mesma raça. Assim como a motilidade total, o vigor espermático médio dos espermatozóides oriundos da fração rica ($4,66 \pm 0,10$), observado no presente experimento, foi superior ao registrado por Canisso et al. (2010), equiparando-se ao relatado por Moraes et al. (1994b), ambos avaliando o ejaculado total.

Comparando-se estas variáveis entre os indivíduos, observa-se que o jumento 5 apresentou valores de motilidade e vigor espermáticos inferiores ($p < 0,05$) aos dos jumentos 1, 2 e 3, diferindo dos valores observados para o jumento 4 apenas quanto à motilidade espermática. Entretanto, após a diluição do sêmen, a motilidade espermática não diferiu ($p < 0,05$) entre os reprodutores avaliados.

Tabela 17. Características físicas do sêmen e número de doses inseminantes produzidas por jumentos da raça Pêga, utilizados no Experimento II.

Parâmetros Avaliados	Jumentos					Total
	1	2	3	4	5	
Nº de ejaculados	8	6	5	2	7	28
Montas/ejac.	1,38± 0,18 ^b	1,00± 0,21 ^b	1,00± 0,23 ^b	3,50± 0,36 ^a	1,57± 0,19 ^b	1,43±0,15
Volume (mL)	14,19± 2,26 ^{bc}	35,50± 2,61 ^a	8,60± 2,86 ^c	23,50± 4,52 ^b	13,67± 2,42 ^{bc}	18,29±2,16
Motilidade (%)	89,38± 1,18 ^a	89,17± 1,36 ^a	87,00± 1,49 ^a	87,50± 2,36 ^a	80,71± 1,26 ^b	86,61±0,89
Vigor (0-5)	4,94± 0,12 ^a	4,92± 0,14 ^a	4,80± 0,16 ^a	4,75± 0,25 ^{ab}	4,00 ± 0,13 ^b	4,66±0,10
Motilidade pós-diluição* (%)	83,75± 1,30	85,00± 1,50	83,00± 1,64	80,00± 2,60	77,86± 1,39	82,14±0,83
Sptz/mL (x10 ⁶)	888,75± 125,48 ^{ab}	528,33± 144,90 ^b	1248,00± 158,73 ^a	560,00± 250,97 ^b	618,57± 134,15 ^b	784,64±79,23
Sptz móveis/ mL (x10 ⁶)	742,50± 103,69 ^{ab}	450,42± 119,74 ^b	1033,80± 131,16 ^a	443,00± 207,39 ^b	485,21± 110,85 ^b	646,21±66,05
Sptz total/ ejac. (x10 ⁶)	12146,88± 1649,11 ^{ab}	18286,67± 1904,23 ^a	9579,00± 2085,98 ^b	13010,00± 3298,22 ^{ab}	7946,57± 1762,97 ^b	12015,57± 1081,38
Nº de sptz móveis/ ejac. (x10 ⁶)	10145,69± 1393,27 ^{ab}	15641,33± 1608,81 ^a	7835,10± 1762,36 ^b	10332,50± 2786,54 ^{ab}	6216,19± 1489,47 ^b	9941,69± 942,86
Volume de sêmen/ dose	0,58± 0,11 ^{ab}	0,92± 0,13 ^{ab}	0,47± 0,14 ^b	0,92± 0,22 ^{ab}	1,10± 0,12 ^a	0,79±0,07
Volume de diluidor/ dose	21,42± 0,11 ^{ab}	21,08± 0,13 ^{ab}	21,53± 0,14 ^a	21,09± 0,22 ^{ab}	20,90± 0,12 ^b	21,21±0,07
Nº de doses/ejac.	25,22± 3,47 ^{ab}	39,02± 4,00 ^a	19,54± 4,39 ^b	25,84± 6,94 ^{ab}	15,56± 3,71 ^b	24,79±2,35

^{a,b,c} Médias seguidas por letras distintas na linha diferem entre si (p<0,05).

* Menor motilidade observada após a diluição, utilizada para o cálculo da dose inseminante.

A concentração espermática por mL de sêmen do ejaculado total de jumentos da raça Pêga variou de $198,71 \times 10^6$ (Rossi, 2008) a $444,11 \pm 182,72 \times 10^6$ spz/mL (Morais et al., 1994b). No presente experimento, a concentração espermática da fração espermática rica de reprodutores da mesma raça, variou de $528,33 \pm 144,90$ a $1248,00 \pm 158,73 \times 10^6$ spz/mL, com um valor médio de $784,64 \pm 79,23 \times 10^6$ spz/mL, bem superiores às concentrações descritas anteriormente, para o ejaculado total.

Para os dois primeiros jatos do ejaculado de jumentos da raça Pêga, Mello (1998) registrou concentrações espermáticas variando de $246,25 \pm 103,07$ a $930,05 \pm 260,53 \times 10^6$ spz/mL. No presente experimento, para jumentos da mesma raça, observaram-se médias ligeiramente superiores. Talvez a presença do terceiro jato, seja responsável por esta diferença. Entre os cinco indivíduos avaliados, as menores ($p < 0,05$) concentrações espermáticas foram observadas para os jumentos 2, 4 e 5, que diferiram ($p < 0,05$) da maior média registrada, apresentada pelo jumento 3. Por outro lado, a concentração espermática registrada para o jumento 1 não diferiu ($p > 0,05$) das demais médias.

Sendo uma resultante da motilidade e da concentração espermáticas, observou-se que o número de espermatozóides móveis/mL apresentou um comportamento similar ao descrito para o número de espermatozóides por mL de sêmen.

O volume de sêmen e de diluidor necessários para se produzir uma dose inseminante de 22 mL e 400×10^6 spz móveis, também diferiu ($p < 0,05$) entre os reprodutores. Assim, o reprodutor 5 exigiu um maior ($p < 0,05$) volume de sêmen/dose inseminante quando comparado ao jumento 3, que exigiu o menor volume, devido à sua alta concentração espermática. Para os demais jumentos (1, 2 e 4) observaram-se valores intermediários, que não diferiram ($p > 0,05$) entre si, nem dos demais (3 e 5). Situação inversa foi observada para o volume de diluidor, uma vez que o

volume da dose inseminante foi fixado em 22 mL.

No presente experimento, o número total de espermatozóides, presentes na fração rica do ejaculado de jumentos da raça Pêga, variou de $7,95$ a $18,29 \times 10^9$ espermatozóides. Para uma fração rica representada apenas pelos dois primeiros jatos do ejaculado, de jumentos da mesma raça, Mello (1998), registrou número total de espermatozóides de $9,04$ a $14,35 \times 10^9$ espermatozóides. Assim, o maior número de espermatozóides na fração rica do ejaculado, no presente experimento, deve-se, provavelmente a inclusão do terceiro jato na fração rica do ejaculado.

Vale salientar, aqui, que o número médio total de espermatozóides presentes no ejaculado fracionado, no presente experimento ($12,02 \pm 1,01 \times 10^9$ spz/mL), foi inferior ao descrito por Moraes et al. (1994b). No entanto, apresentou-se similar ao descrito posteriormente por Canisso et al. (2010) para o ejaculado total de jumentos da raça Pêga, demonstrando-se que a fração espermática rica responde por uma alta porcentagem da concentração espermática do ejaculado total dos asininos. Resultado similar foi obtido por Mello (1998), quando a fração rica do ejaculado de jumentos respondeu por 94% do total de espermatozóides do ejaculado, em aproximadamente 57,6% do volume de sêmen.

Desta forma, a coleta fracionada não acarreta grande perda, em relação à coleta total, quanto ao número total de espermatozóides coletados, bem como ao número potencial de fêmeas a serem inseminadas. Assim, fixando-se o número de espermatozóides por dose inseminante em 400×10^6 spz móveis, o ejaculado fracionado dos jumentos, utilizados no presente experimento, foi capaz de produzir de 15,56 a 39,02 doses inseminantes, com uma média de 24,79 doses. Quando coletou o ejaculado total de cinco jumentos da raça Pêga, Rossi (2008) relatou uma produção de 5,60 a 27,66 doses inseminantes (400×10^6 spz móveis)/ ejaculado. Demonstrou-se, assim, que a sua utilização

não reduziu as vantagens da coleta e diluição do sêmen como ferramenta de maximização da utilização de um reprodutor, quando um ejaculado, mesmo que fracionado, pode ser utilizado para a inseminação de até 24 fêmeas, dentro e/ou fora da propriedade onde se encontra o garanhão (Tabela 17).

4.2.1.2. Características físicas do sêmen diluído em diluidor LPDG ou LGO e resfriado a 5°C em contêiner proposto por Palhares (1997)

No Experimento IIa comparou-se a eficiência de dois diferentes diluidores para a manutenção das características físicas do sêmen fracionado de cinco jumentos, durante o armazenamento à 5°C. Na Tabela 18,

observa-se o número de amostras avaliadas, no presente experimento, quanto à motilidade e ao vigor espermáticos, por jumento e tratamento, nos diferentes períodos de avaliação, compreendendo o do sêmen fresco, após a pré-diluição do sêmen (PD), pré-inseminação artificial (pré- IA) e às 24 e 48 horas após a sua coleta. O intervalo médio real, de realização destas avaliações foi descrito na Tabela 14, na seção Materiais e Métodos. Devido ao número insuficiente de observações associadas ao jumento 4 e ao período 72 horas, optou-se pela remoção destes dados previamente à realização das análises estatísticas. O comportamento da motilidade e vigor espermáticos, incluindo-se o jumento quatro e o tempo 72 horas está apresentado nas Tabelas 29 e 30 dos Anexos.

Tabela 18. Número de amostras avaliadas, por jumento e tratamento, nos diferentes períodos de avaliação do Experimento II.

Tempo de Avaliação \ Jumento	Diluidores											
	LPDG						LGO					
	1	2	3	4	5	TOTAL	1	2	3	4	5	TOTAL
Fresco	8	6	5	2	7	28	8	6	5	2	7	28
PD	8	6	5	2	7	28	8	6	5	2	7	28
Pré IA	7	6	5	2	6	26	7	6	5	2	7	27
24h	5	4	4	1	5	19	5	4	3	1	5	18
48h	4	3	4	1	3	15	3	4	3	1	3	14
72h	2	2	1	1	2	8	0	0	0	0	2	2
TOTAL	34	27	24	9	30	124	31	26	21	8	31	117

Tabela 19. Análise dos fatores capazes de influenciar a motilidade espermática do sêmen asinino fracionado, diluído nos diluidores de Leite em Pó Desnatado-Glicose ou Lactose-Gema de Ovo e resfriado, avaliado a diferentes períodos após a sua coleta.

Fatores	Valor de F	Valor de p
Jumento	3,00	0,0322*
Tratamento	196,14	0,0001*
Período	205,04	0,0001*
Tratamento x Jumento	8,09	0,0001*
Período x Jumento	4,58	0,0001*
Tratamento x Jumento x Período	11,50	0,0001*

*p<0,05.

No modelo proposto (Tabela 19) observou-se que a motilidade espermática, como variável dependente, foi influenciada (p<0,05) pelo jumento, pelo tratamento ao qual o sêmen foi

submetido, bem como pelo período de armazenamento do sêmen. Além disso, verificou-se interações entre jumento x tratamento, entre jumento e período de

armazenamento, bem como interação tripla entre jumento, tratamento e período de avaliação.

Os dados de motilidade e de vigor espermáticos, observados para os jumentos, nos diferentes períodos de avaliação, estão apresentados nas Tabelas 20 e 21, excluindo-se o jumento 4 e o tempo de avaliação de 72 horas, devido ao pequeno número de amostras, como observado na Tabela 18.

Observa-se na Tabela 20, que a motilidade espermática não diferiu ($p > 0,05$) entre os períodos de avaliação fresco e PD, sendo similar entre os jumentos e tratamentos. Para o sêmen diluído em diluidor LGO, observou-se uma redução ($p < 0,05$) da motilidade espermática já no período pré-IA (média 16,10 horas), em relação ao sêmen fresco, para todos os jumentos, enquanto para o sêmen diluído em diluidor LPDG esta característica foi mantida sem alteração durante este período. Ainda no período de avaliação pré-IA, a motilidade espermática diferiu entre os diluidores para os jumentos 1 e 2, quando observou-se superioridade ($p < 0,05$) dos tratamentos utilizando LPDG em relação aos utilizando LGO.

Às 24 horas de armazenamento, no tratamento LPDG, observou-se uma redução da motilidade espermática, em relação ao sêmen fresco, para os jumentos 1 e 5, enquanto esta manteve-se estável para os jumentos 2 e 3. Observou-se, ainda, superioridade do diluidor LPDG, em relação ao LGO, no que diz respeito à manutenção da motilidade espermática, em dois dos quatro jumentos avaliados (2 e 3). Após 48 horas de armazenamento observou-se, de modo geral, que a porcentagem de espermatozóides móveis se manteve acima de 45% para o sêmen fracionado e diluído em diluidor LPDG, não diferindo daquela observada às 24 horas pós-coleta, independentemente do jumento. Entretanto, quando analisa-se apenas o sêmen fracionado diluído em diluidor LGO, apenas um reprodutor (jumento 5) apresentou mais de 30% de células espermáticas móveis às 48 horas de armazenamento. Com exceção

do jumento 5, observou-se uma redução sistemática da motilidade espermática entre 24 e 48 horas de armazenamento para o sêmen diluído em LGO, sendo a motilidade espermática, no período de 48 horas de armazenamento, superior ($p < 0,05$) para o sêmen diluído em diluidor LPDG em relação ao LGO, em três dos quatro jumentos avaliados.

De uma maneira geral, o sêmen diluído em LPDG apresentou uma motilidade espermática sempre superior à do LGO, já a partir do tempo Pré-IA, quando dois dos quatro jumentos mostraram resultados superiores ($p < 0,05$ – Jumentos 1 e 2). Às 48 horas de armazenamento, todos os jumentos apresentaram valores de motilidade superiores a 45% (variação de 45 a 53%) quando o sêmen foi diluído em LPDG, enquanto apenas o jumento 5 apresentou motilidade superior à 30% no tratamento utilizando LGO, o que permite apontar, mais uma vez, a superioridade do diluidor LPDG.

Na espécie asinina, Ferreira (1993) e Santos (1994) observaram diferenças ($p < 0,05$) entre jumentos e entre ejaculados de um mesmo animal para as variáveis seminais motilidade total, motilidade progressiva e vigor durante o armazenamento do sêmen resfriado a 5°C. Também trabalhando com a espécie asinina, porém com sêmen congelado, Miró et al.(2003), citado por Castejón (2005), observaram uma viabilidade espermática pós-descongelamento variando entre 23% e 60% de acordo com o indivíduo. Desta forma, a habilidade do espermatozóide em resistir à um determinado protocolo envolvendo a sua preservação, é inerente a cada reprodutor, podendo influenciar a motilidade, o vigor, a morfologia e a capacidade fecundante do sêmen pós-processamento.

Tabela 20. Efeito do jumento e do diluidor sobre a motilidade espermática, avaliada após a coleta (Fresco), após a pré-diluição (PD), previamente à inseminação artificial (Pré-IA) e à diferentes períodos de estocagem do sêmen à 5°C (24 e 48 horas), em contêiner proposto por Palhares (1997)

Período de Avaliação \ Jumento	Diluidores							
	LPDG ^x				LGO ^y			
	1	2	3	5	1	2	3	5
Fresco	89,38±3,35 ^a	89,17±3,87 ^a	87,00±4,24 ^{ab}	80,71±3,59 ^{ab}	89,38±3,35 ^a	89,17±3,87 ^a	87,00±4,24 ^{ab}	80,71±3,59 ^{ab}
PD	85,63±3,35 ^{ab}	85,83±3,87 ^{ab}	83,00±4,24 ^{ab}	78,57±3,59 ^{abc}	83,75±3,35 ^{ab}	85,00±3,87 ^{ab}	83,00±4,24 ^{ab}	77,86±3,59 ^{abc}
Pré- IA	70,71±3,59 ^{abcd}	72,50±3,87 ^{abcd}	70,00±4,24 ^{abcde}	65,00±3,87 ^{bcdef}	45,00±3,59 ^{efg}	40,00±3,87 ^{fg}	48,00±4,24 ^{defg}	47,86±3,59 ^{defg}
24h	65,00±4,24 ^{bcdef}	70,00±4,74 ^{abcde}	67,50±4,74 ^{abcde}	57,00±4,24 ^{cdefg}	45,00±4,24 ^{efg}	36,25±4,74 ^g	13,33±5,48 ^h	42,00±4,24 ^g
48h	45,00±4,74 ^{efg}	53,33±5,48 ^{defg}	51,25±4,74 ^{defg}	50,00±5,48 ^{defg}	0,00±5,48 ⁱ	8,75±4,74 ^h	0,00±5,48 ⁱ	35,00±5,48 ^g

^{a,b,c,d,e,f,g,h,i} Médias seguidas por letras diferentes, na linha ou na coluna, diferem entre si (p<0,05).

^x Diluidor de Leite em Pó Desnatado – Glicose (Kenney et al., 1983).

^y Diluidor de Lactose - Gema de Ovo (Nagase e Graham, 1964), modificado pela remoção do glicerol.

Tabela 21. Efeito do jumento e do diluidor sobre o vigor espermático, avaliado após a coleta (Fresco), após a pré-diluição (PD), previamente à inseminação artificial (Pré-IA) e à diferentes períodos de estocagem do sêmen à 5°C (24 e 48 horas), em contêiner proposto por Palhares (1997).

Período de Avaliação \ Jumento	Diluidores							
	LPDG ^x				LGO ^y			
	1	2	3	5	1	2	3	5
Fresco	4,94±0,19 ^{aA}	4,92±0,22 ^{aA}	4,80±0,24 ^{aA}	4,00±0,20 ^{bABC}	4,94±0,19 ^{aA}	4,92±0,22 ^{aA}	4,80±0,24 ^{aA}	4,00±0,20 ^{bABC}
PD	4,25±0,19 ^{bB}	4,67±0,22 ^{aAB}	4,50±0,24 ^{abAB}	3,93±0,20 ^{bAB}	4,38±0,19 ^{aB}	4,33±0,22 ^{aBC}	4,40±0,24 ^{aAB}	4,29±0,20 ^{aA}
Pré- IA	3,50±0,20 ^{aC}	3,92±0,22 ^{aC}	3,60±0,24 ^{aBC}	3,42±0,22 ^{aCD}	2,64±0,20 ^{aD}	3,00±0,22 ^{aE}	3,10±0,24 ^{aC}	3,14±0,20 ^{aDE}
24h	3,40±0,24 ^{aCD}	3,63±0,27 ^{aCD}	3,25±0,27 ^{aC}	3,30±0,24 ^{aCDE}	3,00±0,24 ^{aD}	2,75±0,27 ^{aDE}	1,00±0,31 ^{aCD}	2,40±0,24 ^{aE}
48h	2,88±0,27 ^{aD}	3,17±0,31 ^{aDEF}	2,88±0,27 ^{aC}	3,33±0,31 ^{aBCDE}	0,00±0,31 ^{bE}	1,25±0,27 ^{abF}	0,00±0,31 ^{bD}	3,00±0,31 ^{aDE}

^{A,B,C,D,E,F} Médias seguidas por letras diferentes, dentro de cada jumento, indicam efeito (p<0,05) do diluidor e do tempo de estocagem do sêmen.

^{a,b} Médias seguidas por letras diferentes na linha, dentro de diluidor, diferem entre si (p<0,05).

^x Diluidor de Leite em Pó Desnatado – Glicose (Kenney et al., 1983).

^y Diluidor de Lactose - Gema de Ovo (Nagase e Graham, 1964), modificado pela remoção do glicerol.

Na Tabela 21 estão apresentadas as avaliações referentes ao vigor espermático do sêmen diluído nos diluidores LPDG e LGO, excluídos o jumento 4 e o tempo de avaliação 72 horas, em virtude do pequeno número de amostras, como observado na Tabela 18.

Para o sêmen fresco, observou-se uma variação individual, no que se refere à característica de vigor espermático, que apresentou-se inferior ($p < 0,05$) no sêmen fracionado obtido do jumento cinco, em relação aos demais reprodutores. Após a diluição inicial (1:1) do sêmen no diluidor LGO, não mais observou-se efeito do reprodutor sobre o vigor espermático. Entretanto, para o sêmen diluído no diluidor LPDG, o vigor espermático diferiu entre os reprodutores, sendo superior ($p < 0,05$) para os espermatozóides oriundos do jumento 2 em relação aos observados para as células espermáticas dos reprodutores 1 e 5.

O efeito do diluidor sobre o vigor espermático do sêmen asinino fracionado tornou-se evidente a partir do tempo de armazenamento correspondente ao período pré – inseminação (média de 16,10 horas), quando observou-se superioridade ($p < 0,05$) do diluidor LPDG em relação ao LGO, para dois (jumentos 1 e 2) dos quatro jumentos avaliados. Entretanto, às 24 horas de armazenamento, o vigor espermático não diferiu entre os diluidores utilizados, para nenhum dos reprodutores avaliados. Já às 48 horas após a coleta, o vigor espermático foi superior para as células espermáticas do sêmen diluído em LPDG em relação ao LGO, para os jumentos 1 e 3, não diferindo entre os diluidores para o sêmen dos jumentos 2 e 5.

Avaliando-se o comportamento do sêmen armazenado a 5°C, observou-se uma redução progressiva do vigor espermático ao longo do período de avaliação, independentemente do jumento e do diluidor utilizado, com exceção do sêmen do jumento 5, quando diluído no diluidor LPDG. Como observado para a motilidade espermática (Tabela 20), observou-se uma queda mais acentuada do vigor espermático nas amostras diluídas em

LGO, em relação às diluídas em LPDG. Assim, observou-se que todas as amostras diluídas em LPDG mantiveram valores de vigor espermático superiores a 3, quando avaliadas após 24 horas de armazenamento, com variação de 3,25 a 3,63. Das amostras diluídas em LGO e para o mesmo período de armazenamento, apenas uma (Jumento 1) manteve um vigor espermático superior à 3. Mesmo após 48 horas de armazenamento do sêmen, 50% das amostras (Jumentos 2 e 4) mantiveram valores superiores a 3, quando diluídas em LPDG, contra apenas uma de quatro, quando diluídas em LGO.

Assim, de uma maneira geral, pode-se inferir que as células espermáticas diluídas no diluidor LPDG, mantiveram valores de vigor espermático mais regulares que as diluídas em LGO, notadamente no que se refere às quedas progressivas das mesmas após as 24 horas de armazenamento (tempos de 24 e 48 horas).

Para o ejaculado total de asininos, há relatos na literatura de alta longevidade espermática quando da diluição do sêmen em diluidores contendo diferentes concentrações de gema de ovo. Assim, ao utilizar o diluidor Baken, contendo 3% de gema, para o armazenamento do sêmen à 4°C, Nishikawa (1959) obteve viabilidade espermática por 337 horas (14,04 dias). Já Ferreira (1993), observou uma viabilidade espermática (motilidade progressiva $> 10\%$) por 96 horas, quando da utilização de um diluidor contendo 20% de gema de ovo, sendo esta superior à observada quando da utilização de um diluidor a base de leite desnatado – glicose. Também Rota et al. (2008), compararam a eficiência de três diferentes diluidores, sendo dois deles a base de leite desnatado (INRA96® e INRA82®) e um acrescido de 2% de gema de ovo centrifugada (INRA82-Y) para a preservação do sêmen de três jumentos da raça Amiata. A motilidade progressiva não diferiu entre os tratamentos apenas na avaliação correspondente às 24 horas de armazenamento, sendo para os tempos de 48 e 72 horas superior no sêmen diluído em diluidor INRA82 – Y.

Em relação à utilização do sêmen centrifugado ou fracionado de asininos, Mann et al. (1963), observaram uma motilidade espermática de 60%, ao oitavo dia de armazenamento a 5°C, quando utilizaram o ejaculado asinino centrifugado e diluído em diluidor contendo 16,6% de gema de ovo. Beker (1997), ao utilizar a fração rica do ejaculado de jumentos, diluída em diluidor contendo 3% de gema (Baken) e armazenada a 5°C, observou uma viabilidade espermática (motilidade progressiva >10%) até às 120 horas. Também Mello (1998) relataram superioridade do diluidor Baken modificado (10% de gema de ovo) em relação a um diluidor a base de leite em pó desnatado, para a manutenção das características físicas (motilidade total e progressiva, vigor) do sêmen de jumentos, tanto para a fração rica em espermatozoides quanto para o ejaculado total. Assim, para a fração rica do ejaculado de jumentos, observaram motilidade total superior a 30% até o 7º dia de armazenamento a 5°C para as amostras diluídas no diluidor Baken, e até o 5º dia para as diluídas em diluidor a base de leite. Em equinos, a adição de gema de ovo aos diluidores a base de leite foi benéfica para as amostras submetidas à remoção prévia do plasma seminal por centrifugação (Jasko et al., 1992; Bedford et al., 1995; Heitland et al., 1995).

No presente experimento, uma motilidade espermática superior a 45% (0-100%) e vigor acima de 2,8 (0-5) foram observadas até às 48 horas de armazenamento, quando da diluição da fração rica em diluidor LPDG, independentemente do jumento utilizado. Entretanto, para o sêmen diluído no diluidor LGO, apenas as amostras oriundas do jumento 5 apresentaram mais de 30% de células espermáticas móveis com vigor acima de 2,8, após 48 horas de armazenamento. Ao avaliar o efeito do diluidor sobre a manutenção da viabilidade espermática *in vitro*, Dalmau (2003) observou que a viabilidade espermática ($MP \geq 30\%$) foi mantida por 47,45; 37,76; 26,84 e 4,26 horas, respectivamente, para o sêmen diluído nos diluidores INRA82®, leite em pó desnatado -

glicose, leite desnatado e tris-gema. Independentemente do procedimento ao qual o sêmen foi submetido (ejaculado total com ou sem plasma seminal e fração rica do ejaculado) o diluidor tris-gema, contendo 20% de gema de ovo em sua composição apresentou os piores resultados. Os resultados obtidos pela última autora são inferiores aos obtidos no presente experimento, quando a fração rica, diluída em diluidor LPDG, manteve uma motilidade espermática superior à 30% até às 48 horas de armazenamento, sendo que o sêmen diluído em LGO, manteve sua motilidade superior a 30% até as 24 horas pós-coleta, com exceção do jumento 3 (Tabela 20).

Ressalvas sejam feitas às diferenças metodológicas entre os diferentes trabalhos; entretanto, os resultados obtidos no presente experimento divergem dos obtidos pelos autores supracitados, uma vez que observou-se, neste experimento, superioridade das características espermáticas avaliadas, quando da diluição do sêmen em diluidor a base de leite em detrimento do apresentando gema de ovo em sua formulação, durante o armazenamento da fração espermática rica em espermatozoides do ejaculado de jumentos da raça Pêga. A menor viabilidade espermática obtida no presente experimento, quando comparada aos resultados obtidos por Beker (1997) e Mello (1998), pode estar relacionada à maior concentração de gema de ovo (20%) presente na composição do diluidor lactose - gema de ovo modificado, em relação aos diluidores Baken (3%) e Baken modificado (10%), utilizados pelas autoras, na ordem em que foram citadas. Comparando-se os resultados obtidos por Mann et al. (1963), com os observados no presente experimento, destacam-se as diferenças metodológicas em relação aos demais constituintes presentes no diluidor utilizado, além da gema de ovo. Além disso, ressalta-se que estes autores utilizaram o sêmen centrifugado e não o oriundo da fração rica em espermatozoides. Desta forma, permanece incerto se o comportamento da fração espermática rica durante o armazenamento assemelha-se ao observado para o ejaculado total submetido à

centrifugação para remoção do plasma seminal.

Embora a centrifugação possa ter efeitos negativos sobre a atividade espermática (McLeod e MacGee, 1950), vários estudos têm apresentado resultados favoráveis acompanhando a sua utilização. Assim, Jasko et al. (1991) relataram que a diluição do ejaculado total foi inferior quanto à manutenção da motilidade espermática em relação a um tratamento utilizando a centrifugação do sêmen e remoção do plasma seminal, previamente à sua diluição e resfriamento. Moore et al. (2005b) verificaram que a incubação por duas a seis horas com 20% de plasma seminal foi deletéria à viabilidade espermática em relação à preservação com 5% de plasma. Love et al. (2005) observaram melhor preservação da motilidade espermática e da integridade do DNA, na ausência de plasma seminal, quando o ejaculado foi diluído e resfriado por 48 horas.

Webb e Humes (2009) avaliaram os efeitos da remoção do plasma seminal e da diluição do sêmen equino nos diluidores de leite desnatado-glicose, INRA96® e VMD-Z®, sobre as motilidades total e progressiva, quando o mesmo foi armazenado por até 72 horas. Desconsiderando-se o efeito dos diluidores, a remoção do plasma seminal não resultou em incremento das motilidades total e progressiva dos espermatozóides armazenados. Entretanto, os achados de Aurich et al. (1996), Brinsko et al. (2000) e Mattos et al. (2003) apontam para a variação individual na composição do plasma seminal como fator determinante de seus efeitos, positivos ou negativos, sobre a manutenção da viabilidade espermática *in vitro*.

Assim, ao compararem os efeitos da remoção do plasma seminal, sobre a motilidade espermática do sêmen asinino resfriado, Ferreira et al. (1991) concluíram que o procedimento de centrifugação, com retirada do plasma seminal, não foi benéfico à preservação do sêmen de jumentos armazenado a 5°C, independentemente do

diluidor utilizado. De maneira contrária, ao comparar os espermatozóides oriundos do ejaculado total, submetido ou não à centrifugação, com os oriundos da fração rica, Dalmau (2003) observou maior viabilidade espermática nas amostras armazenadas na ausência de plasma seminal, independentemente do diluidor utilizado. Motilidade progressiva igual ou superior a 30% foi mantida por um tempo médio de 37,05 horas para o sêmen centrifugado, valor superior às 27,90 horas observadas para a fração rica, que por sua vez superou às 22,30 horas, obtidas quando utilizou-se o ejaculado total. Resultados similares foram obtidos por Miró et al. (2009), quando observaram motilidades superiores, após 24 e 48 horas de armazenamento do sêmen asinino a 5°C, nas amostras centrifugadas ou submetidas à uma maior taxa de diluição (1:10).

Também Rota et al. (2008) avaliaram o efeito da centrifugação e da presença do plasma seminal sobre a manutenção das características espermáticas do sêmen asinino resfriado. Após 24 e 48 horas de armazenamento, o tratamento envolvendo remoção do plasma seminal apresentou uma maior proporção de espermatozóides com motilidade progressiva; entretanto, com maior redução da porcentagem de células reagindo positivamente ao teste hiposmótico. Às 72 horas de armazenamento, a motilidade total foi melhor preservada no sêmen diluído quando comparado ao centrifugado com remoção do plasma seminal. Assim, a remoção do plasma seminal, neste experimento, não ofereceu vantagens, quanto à manutenção das características espermáticas, durante a preservação do sêmen asinino *in vitro*. Quando utilizaram a centrifugação, com remoção do plasma seminal, em um protocolo envolvendo o resfriamento do sêmen de jumentos da raça Martina – Franca, Contrí et al. (2010) obtiveram uma motilidade espermática progressiva superior à 30% por até 120 horas de armazenamento à 5°C, na presença do diluidor INRA96®.

Em relação à fração rica do ejaculado, Langkammer (1994) citado por Lindeberg et al. (1999), relataram uma queda menos acentuada das motilidades total e progressiva após 72 horas de armazenamento a 4°C para os espermatozóides oriundos da fração rica do sêmen de garanhões Puro-Sangue, em comparação aos oriundos do ejaculado total. Já no estudo conduzido por Lindeberg et al. (1999), as motilidades total e progressiva, após 24 e 48 horas de armazenamento, não diferiram entre o sêmen oriundo da fração rica do ejaculado, obtido pelo Equidame®, e o ejaculado total. Segundo Akcay et al. (2006), o plasma seminal oriundo da fração rica do ejaculado de equinos foi mais deletério à motilidade espermática do que o oriundo da fração pobre. Ainda neste sentido, Sieme et al. (2003) observaram que a centrifugação da fração rica do sêmen de equinos beneficiou a motilidade progressiva e a integridade das membranas espermáticas pós-descongelamento, quando comparadas às da fração rica não centrifugada.

Pelo fato dos jumentos pertencerem ao mesmo grupo taxonômico dos cavalos, muitas tecnologias têm sido adaptadas dos equinos para os asininos. Assim, resultados controversos estão disponíveis na literatura quando se pretende avaliar os benefícios da remoção do plasma seminal, durante o armazenamento do sêmen asinino resfriado. Entretanto, existem particularidades em cada espécie. Diante disso, torna-se necessário caracterizar a composição do plasma seminal dos asininos, principalmente em relação ao seu conteúdo proteico, nas diferentes frações do ejaculado. Há que se ressaltar, ainda, a escassez de estudos conduzidos envolvendo a realização de testes de fertilidade.

Segundo Varner et al. (1987), concentrações espermáticas entre 25-50 x 10⁶ células/mL são as mais adequadas para a preservação do sêmen equino. No entanto, segundo estes mesmos autores, a redução da viabilidade espermática associada ao “efeito diluição” só foi observada quando a concentração espermática foi inferior a 20 x 10⁶ espermatozóides/mL. Considerando-se um

volume médio de sêmen de 0,79 mL/ dose inseminante e uma concentração espermática de 784,64 x 10⁶ spz/mL (Tabela 17), observou-se uma concentração espermática média de espermatozóides por dose inseminante de aproximadamente 619,87 x 10⁶, que divididos por 22 mL (volume da dose inseminante), indicaram uma concentração média de 28,17 x 10⁶ espermatozóides/ mL de sêmen diluído. Ao se enquadrar à concentração espermática mínima proposta por Varner et al. (1987), a adotada no presente não acarretou em prejuízos à manutenção da viabilidade espermática *in vitro*, quando do armazenamento do sêmen asinino resfriado a 5°C, uma vez que não ultrapassou o limiar mínimo, responsável pelo desencadeamento do “efeito diluição”. Além disso, há que se ressaltar que a presença de macromoléculas nos diluidores seminais, como a caseína do leite e a gema de ovo, aumenta de maneira considerável a resistência espermática aos efeitos deletérios de uma alta taxa de diluição (Varner et al., 1987).

Único na literatura, o estudo de Beker (1997) avaliou o efeito de diferentes concentrações espermáticas por mL de sêmen diluído (25, 50 ou 100 x 10⁶ spz/mL) sobre as características físicas da fração rica do sêmen asinino, diluída em diluidor a base de gema de ovo e resfriada a 5°C. Quando se comparou a motilidade total pós-diluição e pós-resfriamento observou-se superioridade para as menores concentrações (25 e 50 x 10⁶ spz/mL), intervalo no qual se enquadra a concentração espermática/mL de sêmen diluído observada no presente experimento. Entretanto, nos dias 2, 3 e 4 pós-coleta, a motilidade total foi maior nas concentrações espermáticas de 50 e 100 x 10⁶ spz/mL. A partir do quinto dia de armazenamento, a concentração espermática não interferiu sobre a motilidade total (Beker, 1997).

Apesar de não ter sido comparada, no presente experimento, a viabilidade dos espermatozóides oriundos da fração rica ou do ejaculado total, os resultados obtidos sugerem não haver prejuízos da remoção do plasma seminal, utilizando-se a coleta

fracionada, sobre a motilidade e o vigor espermáticos do sêmen asinino, diluído, resfriado e armazenado a 5°C, no contêiner proposto por Palhares (1997), notadamente no que diz respeito ao diluidor de leite em pó desnatado – glicose (Tabela 20). Vale ressaltar que, segundo Amann e Graham (1993), o resfriamento induz efeitos mais marcantes na fertilidade do que na motilidade espermática, uma vez que outros elementos na membrana celular podem sofrer alteração com a queda da temperatura, tais como as proteínas envolvidas no transporte de íons.

É importante ressaltar, neste momento, que esta alternativa foi confirmada no presente experimento. Assim, quando se avalia os dados da Tabela 22 conclui-se que, para o diluidor LGO, as características físicas do sêmen foram mais bem preservadas (Tabelas 20 e 21) do que a fertilidade, observando-se que apenas 4,76% (1/21) das éguas tornou-se gestante, para um sêmen armazenado a 5°C, por um tempo médio de 17,91±0,23 horas. Há que se enfatizar, ainda, que três de quatro jumentos mantiveram uma motilidade espermática superior à 30% (36,25 a 45,00%), quando avaliadas às 24 horas de armazenamento, portanto, posteriormente à realização das inseminações. Finalmente, o presente experimento não se limitou à avaliação das características físicas do sêmen com ponto final, sendo realizado, em uma segunda etapa, o teste de fertilidade (Experimento IIb).

4.2.2. Experimento IIb. Taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen asinino diluído nos diluidores de Leite em Pó Desnatado – Glicose (LPDG) ou Lactose – Gema de Ovo modificado (LGO) e resfriado em contêiner proposto por Palhares (1997)

Foram utilizadas, neste experimento, 44 éguas sem raça definida, distribuídas uniformemente após agrupamento por idade e categoria reprodutiva, entre os tratamentos LPDG e LGO, e inseminadas com sêmen resfriado de cinco jumentos da raça Pêga. As características físicas do sêmen e o

desempenho reprodutivo dos jumentos utilizados como doadores de sêmen estão apresentadas na Tabela 17.

Os parâmetros de controle e de resultados das fêmeas inseminadas, por jumento e tratamento ao qual pertenceram, os quais informam a uniformidade entre os mesmos, bem como as respostas dos tratamentos, estão apresentadas na Tabela 31 dos Anexos. As significâncias estatísticas das variáveis incluindo jumento, diluidor e suas interações foram testadas pelo modelo multivariável GLM.

Não havendo diferenças entre os tratamentos, nem interação jumento x tratamento ($p>0,05$), foi possível comparar o efeito dos jumentos, independentemente dos tratamentos (diluidores), bem como o efeito dos diluidores, independentemente de jumento, sobre diferentes características reprodutivas e a taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado a 5°C, em contêiner proposto por Palhares (1997).

4.2.2.1. Taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen diluído nos diluidores de Leite em Pó Desnatado-Glicose (LPDG) ou Lactose-Gema de Ovo (LGO), e resfriado a 5°C em contêiner proposto por Palhares (1997), independentemente do jumento utilizado

Observou-se que, com exceção do número de espermatozoides por dose inseminante, os demais parâmetros de controle não diferiram entre os tratamentos (Tabela 22). Maior concentração espermática por dose inseminante esteve associada ao tratamento envolvendo a inseminação de éguas com sêmen diluído em diluidor LGO modificado, sendo a menor concentração, utilizada nas éguas inseminadas com sêmen diluído em diluidor LPDG, ambos resfriados a 5°C, por até 24 horas. As pequenas diferenças observadas entre os tratamentos, no que diz respeito a esta variável, deveram-se a ajustes necessários quando da determinação do volume da dose inseminante, no momento da inseminação. Naturalmente, estas pequenas

diferenças não têm sido consideradas na maioria dos experimentos envolvendo o tema em questão. Entretanto, nos dois tratamentos utilizou-se uma dose inseminante, de aproximadamente 400×10^6 espermatozóides móveis, haja visto o baixo coeficiente de variação observado nos dois tratamentos, para esta variável.

Neste sentido, Ferreira (1993) utilizou uma dose inseminante contendo 250×10^6 espermatozóides com motilidade progressiva, no momento da inseminação, e obteve taxas de concepção/ ciclo de 80,00 e 75,90% para éguas inseminadas com sêmen asinino diluído e resfriado por 24 ou 48 horas. Para inseminações com sêmen asinino a fresco, diluído em diluidor a base de leite, Leite (1994) obteve taxas de concepção/ciclo de 3,44% quando da utilização de concentrações

de 50×10^6 espermatozóides móveis/dose, e de 20,68% para 100×10^6 espermatozóides/dose. Estes resultados foram inferiores aos obtidos com as concentrações/dose inseminante de 200×10^6 espermatozóides, de 53,12%; 400×10^6 células, de 70,00% e 600×10^6 espermatozóides/dose, de 67,64%, que não diferiram ($p > 0,05$) entre si.

Também Boeta e Quintero (2000) e Rossi (2008), utilizaram uma dose inseminante contendo 400×10^6 espermatozóides asininos diluídos e resfriados por 48 ou 12 horas, respectivamente, obtendo-se taxas de concepção de 54,5% a 76,5%, e de 49,74%, na ordem em que foram citados. Assim, de acordo com a literatura, as doses inseminantes utilizadas em ambos os tratamentos, foram suficientes para proporcionar taxas de concepção adequadas.

Tabela 22. Parâmetros de controle e de resultados de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, considerando-se o efeito do diluidor, independentemente do jumento utilizado.

Parâmetros avaliados	Diluidor utilizado	
	LPDG ^x	LGO ^y
Nº de éguas	23	21
Idade (anos)	10,07±0,63	10,64±0,06
Volume de sêmen (mL)	0,84±0,06	0,82±0,07
Volume de diluidor (mL)	21,16±0,06	21,18±0,07
Dose inseminante ($\times 10^6$ spz móveis)	400,68±0,44 ^b	402,20±0,63 ^a
Coleta - pré-diluição (min.)	3,08±0,18	3,03±0,20
Coleta - Diluição (min.)	19,21±1,07	17,18±1,09
Coleta - Resfriamento (min.)	24,17±1,05	21,89±1,14
Coleta - IA (h)	18,09±0,23	17,91±0,23
Nº de IAs/ciclo	1,57±0,20	1,43±0,21
Ciclos/gestação	1,77 ^b	21,00 ^a
Taxa de gestação/ciclo (%)	56,52 (13/23) ^a	4,76 (1/21) ^b

^{a,b} médias na linha seguidas por letras diferentes, diferem entre si ($p < 0,05$).

^xDiluidor de Leite em Pó Desnatado – Glicose (Kenney et al., 1983).

^yDiluidor de Lactose Gema de Ovo (Nagase e Graham, 1964) modificado pela remoção do glicerol.

Ainda na Tabela 22, verifica-se que outros parâmetros de controle, capazes de interferir na taxa de gestação de éguas inseminadas, tais como a idade da égua, o tempo de armazenamento do sêmen (intervalo coleta-IA) bem como o número de inseminações por

ciclo não diferiram ($p > 0,05$) entre os tratamentos, caracterizando uma homogeneidade adequada entre os mesmos. O baixo número de inseminações/ ciclo, observado no presente experimento, pode ser atribuído à utilização sistemática da

gonadotrofina coriônica humana (hCG) em todos os ciclos e que resultou no encurtamento do estro e, conseqüentemente, em um menor número de inseminações por ciclo.

Em relação aos parâmetros de resultados (ciclos/gestação e taxa de gestação/ciclo) observou-se, no presente experimento, superioridade ($p < 0,05$) para o tratamento envolvendo a utilização do diluidor LPDG (56,52%), em relação ao diluidor de LGO modificado, pela retirada do glicerol de sua formulação, com uma taxa de concepção/ciclo de apenas 4,76%. Conseqüentemente, observou-se no tratamento LPDG, associado à maior taxa de concepção/ciclo, a necessidade de um menor número de ciclos/ concepção (1,77), em relação ao tratamento LGO modificado, quando observou-se a necessidade de 21 ciclos para se obter uma gestação. Em sentido oposto, Oces et al. (1984), Ferreira (1993), Mello et al. (2000) e Rota et al. (2008) relataram superioridade para os diluidores contendo gema de ovo em relação aos a base de leite, quanto à manutenção da viabilidade espermática *in vitro* do sêmen asinino resfriado. Entretanto, estudos *in vivo*, comparando a fertilidade do sêmen diluído nos diferentes diluidores não foram realizados por estes autores

Para o sêmen de garanhões, Palmer (1984) relatou que os melhores resultados de fertilidade, envolvendo o sêmen resfriado de garanhões, estiveram associados à utilização de diluidor a base de leite, em detrimento da gema de ovo. Já Heitland et al. (1995), obtiveram boa taxa de recuperação embrionária em éguas inseminadas com o sêmen resfriado de garanhões, diluído em diluidor a base de leite acrescido de 4% de gema de ovo. Carvalho (1992) e Silva Filho (1994) não observaram diferenças quanto à taxa de concepção de éguas inseminadas com sêmen equino diluído em diluidor a base de leite ou de gema de ovo, seja para o sêmen resfriado a 10-15°C ou quando da utilização do sêmen a fresco, diluído.

Diferentemente do que observou-se no presente experimento, utilizando sêmen fracionado, Rossi (2008) obteve taxas de concepção/ ciclo similares entre os tratamentos envolvendo a diluição do ejaculado total de jumentos da raça Pêga em diluidor de leite em pó desnatado-glicose (LPDG) ou glicina-gema de ovo (GGO), tanto para o sêmen fresco, que foi de 64% e 55%, quanto para o resfriado a 5°C, por até 12 horas, de 51% e 49%, respectivamente.

Considerando-se apenas a taxa de gestação/ciclo obtida após a inseminação de éguas com sêmen asinino diluído em diluidor LPDG e resfriado a 5°C (56,52%), os resultados obtidos, no presente experimento, são similares aos obtidos por Boeta e Quintero (2000) e Rossi (2008), quando utilizaram o mesmo diluidor. No experimento conduzido por Boeta e Quintero (2000), para éguas inseminadas com sêmen asinino diluído e resfriado por até 48 horas, obteve-se taxa de concepção, ao primeiro ciclo, de 54,5%, enquanto Rossi (2008) obteve uma taxa de concepção/ciclo de 51% para as éguas inseminadas com sêmen asinino armazenado por até 12 horas.

A utilização do leite UHT como diluidor seminal foi adotada por Boeta e Quintero (2000), e Vidament et al. (2009), quando do processamento do sêmen asinino resfriado. Assim, Boeta e Quintero (2000) obtiveram uma taxa de concepção de 76,5% para o sêmen armazenado por até 48 horas, resultado superior ao obtido no presente experimento, enquanto Vidament et al. (2009) obtiveram uma taxa de concepção de 45%, em éguas e jumentas, quando o sêmen asinino foi armazenado por até oito horas, sendo este valor inferior ao obtido no presente experimento. Também utilizando sêmen asinino diluído em leite desnatado ultrapasteurizado, entretanto, para a inseminação de jumentas, Rozas (2005) obtiveram taxas de concepção por ciclo de 25,66% (29/113) e 47,36% (18/38), durante duas estações de monta consecutivas.

O diluidor de lactose-gema de ovo modificado foi utilizado, com sucesso, para a diluição do sêmen asinino a ser utilizado a fresco ou resfriado. Assim, Silva (1988) obteve taxas de concepção, ao primeiro ciclo e total, durante três estações de monta consecutivas, de 52,4% e 68,3%, 52,2% e 82,3% e 68,5% e 92,1%, ao utilizar o sêmen a fresco diluído neste diluidor. Ao utilizar o mesmo diluidor, obteve-se uma taxa de concepção por ciclo de 80% para o sêmen armazenado por 24h a 5°C e de 75,90% quando o tempo de armazenamento foi de 48 horas (Ferreira, 1993). Também utilizando o diluidor de lactose – gema de ovo, entretanto, para a inseminação de jumentas com sêmen asinino a fresco diluído, Palhares et al. (1986) obtiveram taxa de concepção ao primeiro ciclo de 57%. A discrepância entre os resultados citados anteriormente e os obtidos neste experimento, apesar de envolverem a utilização do mesmo diluidor, parecem estar relacionadas às diferentes metodologias utilizadas uma vez que, no presente experimento, utilizou-se apenas a fração rica do ejaculado de jumentos, obtida pela coleta fracionada, enquanto nos experimentos de Palhares (1986), Silva (1988) e Ferreira (1993) utilizou-se o ejaculado total de asininos.

Em estudo envolvendo o resfriamento de sêmen equino, Jasko et al. (1992a) observaram que, a adição de 4, 8 ou 16% de gema de ovo ao diluidor a base de leite, para diluir o sêmen cujo plasma seminal foi removido por centrifugação, resultou em aumento das motilidades total e progressiva. Resultados similares foram obtidos por Bedford et al. (1995), quando da adição de 4% de gema de ovo ao diluidor a base de leite, que foi benéfica à manutenção da viabilidade espermática *in vitro* do sêmen resfriado. Entretanto, quando realizaram a inseminação de éguas, Bedford et al. (1995) concluíram que, a inclusão de gema de ovo ao diluidor a base de leite não trouxe prejuízo à motilidade espermática, sendo o sêmen livre de plasma seminal. Entretanto, observou-se uma redução da fertilidade. Assim, a taxa de recuperação embrionária foi de apenas 17%

para as éguas inseminadas com o diluidor acrescido de 4% de gema de ovo, em comparação à de 50% obtida das éguas inseminadas com sêmen diluído em diluidor a base de leite, sem inclusão de gema.

Agrupando-se os resultados obtidos por Palhares et al. (1986), Silva (1988), Ferreira (1993) e Rossi (2008), e comparando-os aos obtidos por Bedford et al. (1995) e aos apresentados no presente experimento, vale considerar a existência de uma interação entre remoção do plasma seminal e presença de gema de ovo nos diluidores seminais, que aditivamente resultam em prejuízos à fertilidade.

Apesar de envolver o congelamento do sêmen asinino, Jepsen et al. (2010) relataram efeito negativo da presença de alta concentração de gema de ovo no diluidor de congelamento sobre a fertilidade de éguas inseminadas. Em um pré-experimento, relataram que o sêmen congelado em diluidor contendo 20% de gema de ovo, associado à presença do glicerol como crioprotetor, resultou em 0% de concepção. Quando o glicerol foi substituído pelo etilenoglicol, obteve-se uma taxa de concepção de 6,3%, para as éguas inseminadas com sêmen congelado na presença de 20% de gema de ovo, enquanto observou-se uma taxa de concepção de 46,5% para àquelas inseminadas com sêmen congelado, na presença de 5% de gema de ovo. Assim, a baixa fertilidade obtida no pré-experimento não esteve associada unicamente à utilização do glicerol como crioprotetor, mas também a concentração de gema presente no diluidor. Estes autores observaram ainda que, o efeito negativo associado à alta porcentagem de gema de ovo foi neutralizado pela adição de ciclodextrina ao diluidor de congelamento, quando se obteve uma taxa de concepção de 58,3%. A capacidade das ciclodextrinas em se ligarem aos lipídios e, preferencialmente, ao colesterol, sugere que este esteróide pode ser o componente da gema de ovo responsável pelo decréscimo da fertilidade, nesta espécie.

Alguns estudos têm demonstrado que o conteúdo elevado de colesterol pode ser prejudicial à célula espermática (Parks et al., 1981), contribuindo para a infertilidade do sêmen de humanos e garanhões (Sugkraroek et al., 1991; Brinsko et al., 2005). Pretende-se que a sua presença possa induzir um estado de decapacitação, inibindo a reação acrossômica (Davis, 1978). Apesar disso, a presença de 20% de gema de ovo nos diluidores seminais utilizados por Silva (1988), Ferreira (1993) e Rossi (2008) não acarretou em prejuízos à fertilidade de éguas inseminadas com sêmen asinino. Provavelmente a manutenção do plasma seminal tenha sido responsável por estes resultados.

Estudos conduzidos na espécie bovina apontam para uma remoção de colesterol da membrana plasmática, por proteínas presentes no plasma seminal, como um dos fatores desencadeantes da capacitação espermática (Manjunath et al., 2002). Componentes lipídicos presentes na gema de ovo são capazes de se ligarem a estas proteínas, sendo um dos mecanismos atribuídos à gema de ovo fornecendo proteção aos espermatozóides durante o armazenamento (Bergeron e Manjunath, 2006). Diante dos resultados, observados no presente experimento, pretende-se que as proteínas presentes no plasma seminal asinino possam também ser capazes de associar-se ao colesterol da gema de ovo, neutralizando seus efeitos negativos.

Ao contrário do observado para o diluidor de LGO modificado, a remoção do plasma seminal não resultou em prejuízos à fertilidade do sêmen asinino, quando se utilizou o diluidor LPDG, uma vez que a taxa de gestação obtida no presente experimento (56,52%) aproxima-se das obtidas por Boeta e Zarco (2000) e Rossi (2008), ao utilizarem o mesmo diluidor, embora envolvendo o ejaculado total.

Apesar da remoção do plasma seminal responder por um incremento quanto à manutenção da viabilidade espermática durante o processo de resfriamento e criopreservação no sêmen bovino (Martinus

et al., 1991; Bergeron et al., 2004), equino (Jasko et al., 1992a; Brinsko et al., 2000; Way et al., 2000; Moore et al., 2005b) e asinino (Dalmau, 2003; Miró et al., 2009), tem sido proposta a participação dos constituintes do plasma seminal em diversos eventos fisiológicos. O procedimento da coleta fracionada, utilizando-se vagina artificial aberta, permite a obtenção da fração rica em espermatozóides descartando-se as frações pré-espermática, de origem bulbo-uretral, e pós-espermática, de origem vesicular. Estas duas frações, eliminadas quando se utiliza a fração espermática rica, caracterizam-se por baixa concentração espermática e altas concentrações de cloreto de sódio e ácido láctico (Mann et al., 1963). Segundo Padilla e Foote (1991) e Kareskoski et al. (2006), altas concentrações de cloro e sódio prejudicam a sobrevivência espermática durante o armazenamento. Assim, com base na origem das frações espermáticas, os fluidos de origem testicular, epididimária, prostática e das ampolas são mantidos no processo de coleta fracionada, indicando ser de mesma origem, os componentes do plasma seminal envolvidos nos processos de fertilização, uma vez que a coleta fracionada associada à diluição do sêmen em diluidor LPDG resultou em uma taxa de concepção/ciclo aceitável.

O efeito da remoção do plasma seminal por centrifugação sobre a eficiência reprodutiva de jumentas inseminadas, com sêmen asinino resfriado, foi estudado por Rozas (2005), que observou forte resposta inflamatória ao sêmen resfriado submetido previamente a eliminação do plasma seminal. A utilização do sêmen não centrifugado, diluído em leite desnatado ultrapasteurizado, resultou em melhor taxa de concepção por ciclo (27% contra 21%), sugerindo uma participação do plasma seminal na modulação da resposta inflamatória uterina em jumentas.

Em um estudo no qual compararam a fertilidade de jumentas, inseminadas com sêmen asinino, submetido a quatro tratamentos diferentes antes das inseminações, I) diluição em leite UHT; II) centrifugação, ressuspensão em leite UHT e

resfriamento à 4°C por 1h 15min; III) centrifugação, ressuspensão em diluidor INRA82® acrescido de 2% de gema de ovo (INRA82-Y) e resfriamento à 4°C por 1h 15min e IV) centrifugação, ressuspensão em diluidor INRA82-Y + 2,5% de glicerol e resfriamento à 4°C por 1h 15min, Vidament et al. (2005) obtiveram taxas de concepção por ciclo de 85,71% (6/7); 77,78% (7/9); 62,5% (5/8) e 0% (0/8) para os tratamentos na ordem em que foram descritos. Os resultados obtidos para os tratamentos I, II e III não diferiram ($p>0,01$) entre si, sendo que apenas o tratamento I foi superior ($p<0,01$) ao tratamento IV. Além de demonstrar o efeito devastador do glicerol, não observou-se, neste experimento, vantagem na remoção do plasma seminal sobre a taxa de concepção de jumentas. Além disso, observou-se que os resultados obtidos no presente experimento, apesar das diferenças metodológicas envolvendo o sêmen fracionado, a inseminação de éguas e maior tempo de resfriamento, são muito inferiores aos obtidos nos tratamentos I, II e III, do experimento de Vidament et al. (2005). Entretanto, ressalta-se um maior tempo de armazenamento do sêmen, no presente experimento.

Observa-se ainda na Tabela 22 que o tempo médio de armazenamento do sêmen, antes das inseminações foi de $18,09\pm 0,23$ e $17,18\pm 1,09$ horas para os tratamentos LPDG e LGO, respectivamente, com extremos de 15,55 a 20,98 e de 14,75 a 20,58 para os tratamentos, na ordem em que foram citados.

A literatura referente à taxa de gestação obtida com a utilização do sêmen asinino, quando utilizou-se monta natural, sêmen a fresco ou a fresco/diluído é escassa, além de apresentar resultados bem diferentes. No Brasil, Jordão et al. (1954) avaliaram a fertilidade de 259 éguas cobertas por monta natural com 28 jumentos, quando obtiveram uma taxa de gestação total de apenas 35,9%, enquanto Silva (1988) obteve taxas de concepção, ao primeiro ciclo e total, de 52,2% a 68,5% e 68,3% a 92,1%, respectivamente, e Ferreira (1993) de 82,70%/ciclo ao utilizarem o sêmen a fresco, diluído no mesmo diluidor,

a base de lactose-gema de ovo. Além disso, Leite (1994) observou uma taxa de concepção por ciclo de 53,12%, para o sêmen a fresco diluído em diluidor a base de leite, ao utilizar uma dose inseminante de 200 milhões de espermatozoides móveis. Em Cuba, Díaz et al. (2009) registraram uma taxa de concepção de 32,08%, em 134 éguas cobertas por monta natural e de 53,80% em éguas inseminadas com sêmen asinino a fresco, diluído em diluidor a base de leite.

Agrupando-se os trabalhos citados anteriormente, têm-se que as taxas de concepção/ciclo, obtidas no presente experimento, para o tratamento LPDG, foram superiores à taxa de concepção total observada por Jordão et al. (1954) e Díaz et al. (2009), para éguas cobertas por monta natural, e similares às obtidas por Silva (1988), Leite (1994) e Díaz et al. (2009), ao utilizarem o sêmen asinino à fresco diluído. As maiores taxas de concepção/ciclo obtidas por Ferreira (1993) quando comparadas às do presente experimento, além de envolverem diferenças metodológicas (tipo de ejaculado e diluidor) podem ser atribuídas à variação individual quanto à fertilidade do reprodutor, uma vez que em seu experimento, apenas um jumento foi utilizado como doador de sêmen.

Para o sêmen resfriado, utilizando diluidores a base de leite, Vidament et al. (2009) obtiveram uma taxa de concepção/ciclo de 45% para o sêmen asinino, armazenado por até oito horas, Rossi (2008) obteve 51% para o sêmen armazenado por até 12 horas e Boeta e Quintero (2000) observaram taxas de concepção, ao primeiro ciclo, variando de 54,5 a 76,5%, para o sêmen armazenado por até 48 horas. Ao utilizarem o diluidor de lactose gema de ovo, Ferreira (1993) obteve uma taxa de concepção /ciclo de 80% para o sêmen armazenado por 24h e de 75,90% para um tempo de armazenamento de 48h. Vale ressaltar, em todos os trabalhos citados acima, a utilização do ejaculado total, diluído nos diferentes diluidores. Além disso, ressalta-se a utilização de apenas um reprodutor nos experimentos conduzidos por Ferreira (1993) e Boeta e Quintero (2000).

Tendo em vista o protocolo de inseminações adotado no presente experimento, obteve-se um intervalo máximo entre a inseminação e a ovulação, de 72 horas (última inseminação às sextas feiras seguida por ovulação às segundas feiras), acompanhado de uma taxa de concepção, no tratamento LPDG, de 100%. Presumindo-se uma viabilidade do oócito de até 12 horas (Dantas, 1995; Valle, 1997; Palhares, 1997; Brandão, 2001; Rossi, 2008), o sêmen fracionado, diluído em diluidor LPDG, resfriado a 5°C e armazenado por um período médio de 18 horas, manteve sua capacidade fertilizante por até 60 horas. Os parâmetros de fertilidade obtidos no presente experimento, no tratamento LPDG, foram similares aos obtidos por Silva (1988), Leite (1994) e Díaz (2009) para o sêmen a fresco diluído, e Rossi (2008), para éguas inseminadas com sêmen asinino resfriado e armazenado por até 12 horas, adotando o mesmo protocolo de inseminação. Assim, conclui-se que a diluição do sêmen fracionado de asininos em diluidor LPDG, associado ao seu resfriamento a 5°C, em contêiner proposto por Palhares (1997), permitiu seu armazenamento por um tempo médio de 18 e máximo de 24 horas, sem prejuízos à fertilização.

Em relação ao diluidor LGO, sua associação à coleta fracionada inviabilizou a utilização deste protocolo para o resfriamento do sêmen asinino. Obteve-se com este tratamento uma única gestação, que foi seguida de perda embrionária antes dos 20 dias pós-ovulação. Assim, pode ser que a presença de uma alta porcentagem de gema de ovo presente no diluidor LGO, tenha sido responsável por conferir uma maior estabilidade à membrana espermática que, associada à uma menor presença de proteínas do plasma seminal decorrente da utilização da coleta fracionada, com importante participação no processo de capacitação espermática tenha sido responsável pela baixa taxa de concepção obtida no presente experimento.

4.2.2.2. Taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen fracionado

diluído e resfriado de diferentes jumentos, independentemente do diluidor utilizado

Independentemente da forma de utilização do sêmen (monta natural, inseminação artificial com sêmen fresco, resfriado ou congelado), a literatura é unânime no que diz respeito às variações individuais. O tempo de sobrevivência espermática em diferentes condições de estocagem também varia entre os indivíduos (Demick et al., 1976; Malmgren et al., 1992). Ao trabalhar com jumentos da raça Pêga, Rossi (2008) observou que a fertilidade diferiu entre os jumentos quando da utilização do sêmen a fresco diluído, com taxas de concepção/ciclo variando de 36% a 71%, sendo esta diferença mantida quando as éguas foram inseminadas com sêmen diluído e resfriado a 5°C por até 12 horas, quando as taxas de concepção variaram de 36% a 74%. Observa-se, entretanto, na Tabela 23, que a taxa de gestação por ciclo, bem como o número de ciclos por gestação, não diferiram entre os cinco jumentos utilizados no presente experimento. Apesar das diferenças numéricas, talvez o número insuficiente de éguas inseminadas com cada reprodutor pode ter sido insuficiente para que as diferenças individuais se manifestassem. Vale ressaltar que a baixa taxa de concepção observada para os jumentos três, quatro e cinco, pode estar associada ao efeito negativo do diluidor LGO sobre a fertilidade, que se tornou mais evidente quando da inseminação de um baixo número de éguas.

No que se refere aos parâmetros de controle, observa-se que a idade das éguas inseminadas e o número de inseminações por ciclo, não diferiram ($p>0,05$) entre os jumentos. Já os parâmetros envolvendo a concentração espermática por dose inseminante e os intervalos da coleta do sêmen à diluição, ao resfriamento e à inseminação artificial diferiram ($p<0,05$) entre os indivíduos. Estas diferenças pequenas e casuais deveram-se à complexa logística necessária durante a utilização de diferentes machos para inseminar éguas, a cada dia.

Tabela 23. Parâmetros de controle e de resultados de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, considerando-se o efeito do jumento, independentemente do diluidor utilizado.

Parâmetros avaliados	Jumentos				
	1	2	3	4	5
Nº de éguas	17	6	5	5	11
Idade (anos)	10,18±0,73	10,33±1,22	9,60±1,34	10,50±1,34	10,86±0,90
Volume de sêmen (mL)	0,62±0,06 ^b	0,91±0,08 ^{ab}	0,64±0,13 ^b	0,98±0,14 ^{ab}	1,09±0,08 ^a
Volume de diluidor (mL)	21,38±0,06 ^a	21,09±0,08 ^{ab}	21,36±0,13 ^a	21,02±0,14 ^{ab}	20,91±0,08 ^b
Dose inseminante (x10 ⁶ sptz móveis)	402,19±0,57 ^{ab}	400,77±0,72 ^{abc}	397,69±1,14 ^c	399,25±1,25 ^{bc}	402,76±0,70 ^a
Coleta - pré-diluição (min)	2,96±0,22 ^{ab}	2,93±0,27 ^{ab}	3,00±0,43 ^{ab}	2,20±0,47 ^b	3,63±0,26 ^a
Coleta - Diluição (min.)	15,25±0,97 ^b	23,00±1,39 ^a	14,25±2,37 ^b	26,80±2,12 ^a	17,63±1,18 ^b
Coleta - Resfriamento (min.)	20,50±0,95 ^b	28,27±1,20 ^a	17,33±1,90 ^b	30,80±2,08 ^a	21,92±1,34 ^b
Coleta - IA (h)	18,14±0,24 ^a	18,30±0,30 ^a	18,32±0,48 ^a	15,64±0,52 ^b	18,15±0,29 ^a
Nº de IAs/ciclo	1,41±0,22	2,50±0,36	1,20±0,40	1,00±0,40	1,45±0,27
Ciclos/gestação	2,43	2,00	5,00	5,00	5,50
Taxa de gestação/ciclo (%)	41,18 (7/17)	50,00 (3/6)	20,00 (1/5)	20,00 (1/5)	18,18 (2/11)

^{a,b,c} Médias na linha seguidas por letras distintas, diferem entre si (p<0,05).

Dentre os fatores que podem alterar os índices reprodutivos de um rebanho, a qualidade seminal assume um efeito considerável. No entanto, essa associação tem-se mostrado questionável sob determinados aspectos. Enquanto Haag (1959) verificou melhores índices de concepção associados a garantões que apresentavam mais de 50% de motilidade e percentuais de espermatozoides anormais inferiores a 40%, Bielanski (1975) observou que garantões com altos índices de anormalidades morfológicas poderiam apresentar excelente fertilidade. Mais tarde, Kenney et al. (1983) verificaram que a concentração espermática associada ao percentual de espermatozoides morfolologicamente normais e a motilidade eram as características seminais que melhor explicavam variações nas taxas de concepção obtidas ao final de uma estação de monta. Nesta mesma linha, outros autores têm mostrado que, das variáveis seminais, a motilidade e a morfologia espermática são as mais relevantes (Dowset et al., 1984; Jasko et al.; 1990).

Embora os aspectos físicos e morfológicos do sêmen tenham mostrado associações expressivas com a fertilidade, agrupando-se os resultados obtidos nos Experimentos IIa e b, torna-se evidente a importância da realização dos testes de fertilidade a fim de se validar uma determinada tecnologia. Apesar do sêmen fracionado de jumentos submetido à diluição em diluidor LGO manter uma boa viabilidade espermática (Motilidade $\geq$ 30%) por até 24 horas em três dos quatro reprodutores avaliados, e até 48 horas em um dos quatro jumentos avaliados, este tratamento foi acompanhado por uma taxa de gestação por ciclo comercialmente inaceitável, quando apenas uma égua concebeu (1/21 – 4,76%), perdendo a gestação antes dos 21 dias.

Tem sido observado que o transporte de sêmen resfriado é de fundamental importância por possibilitar um maior aproveitamento de animais de grande mérito genético, localizados à distâncias das éguas a serem inseminadas, além de ser uma ferramenta muito importante na prevenção de enfermidades oriundas do trânsito e contato

entre animais. Assim, o tempo de armazenamento do sêmen, no presente experimento, seria suficiente para que o mesmo fosse transportado, seja por via aérea ou terrestre, para qualquer localidade do país. Entretanto, mais estudos são necessários visando determinar-se o tempo máximo de armazenamento do sêmen asinino coletado de forma fracionada e resfriado, que pudesse ser utilizado, sem que houvesse prejuízos à taxa de gestação das éguas inseminadas.

Neste experimento, os efeitos da idade da égua, do intervalo entre a coleta do sêmen e a última inseminação artificial, do número de inseminações por ciclo, da categoria reprodutiva e do intervalo IA - ovulação sobre a taxa de gestação das éguas inseminadas foram avaliados. Entretanto, o número insuficiente de ciclos impediu uma interpretação confiável dos resultados que, no entanto, estão apresentados nos Anexos (Análises 333, 335, 336 e 337, 338 e 339, respectivamente).

4.3. Experimento III. Efeito da concentração espermática por dose inseminante e do resfriamento sobre as características físicas do sêmen de jumentos e sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas.

No Experimento II, o diluidor de LGO mostrou-se inferior ($p < 0,05$) ao diluidor de LPDG, quanto à preservação das características seminais *in vitro*. No que se refere à taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído no diluidor de LGO modificado e resfriado, de jumentos da raça Pêga, os resultados foram desastrosos, com apenas uma de 21 éguas tornando-se gestante ($1/21 - 4,76\%$). Assim, objetivou-se com este experimento, avaliar o efeito da concentração espermática por dose inseminante sobre as características físicas do sêmen fracionado, diluído apenas no diluidor de LPDG e também sobre a taxa de gestação de fêmeas equinas inseminadas.

4.3.1. Experimento IIIa. Efeito da concentração espermática por dose

inseminante sobre as características físicas do sêmen de jumentos, avaliadas a diferentes períodos de estocagem em contêiner proposto por Palhares (1997).

4.3.1.1. Características físicas do sêmen fracionado *in natura* e a fresco diluído de jumentos.

Durante a realização do Experimento IIIa foram utilizados 72 ejaculados de cinco reprodutores da raça Pêga, também utilizados nos Experimentos I e II. Os dados referentes ao número de montas por ejaculado, características físicas do sêmen e número de doses inseminantes produzidas por ejaculado dos jumentos estão apresentados na Tabela 24.

No que se refere ao comportamento sexual dos jumentos utilizados no presente experimento, não observou-se diferenças entre os mesmos, quanto ao número de montas por ejaculado. Em média, foram necessárias 1,21 montas para se obter um ejaculado. Este resultado demonstra a boa aceitação dos machos à coleta fracionada do sêmen, quando utilizou-se a vagina artificial aberta. As médias extremas, para esta variável, estiveram associadas aos jumentos dois ($1,00 \pm 0,15$) e um ($1,39 \pm 0,11$).

Em relação às características físicas do sêmen, similarmente ao que observou-se no Experimento IIa, com exceção da motilidade para o sêmen *in natura*, as demais características avaliadas diferiram ($p < 0,05$) entre os indivíduos. Variações significativas nos parâmetros físicos do sêmen entre indivíduos e entre ejaculados de um mesmo indivíduo, também foram descritas em garantões (Mann et al., 1963; Pickett et al., 1970). Quanto à jumentos da raça Pêga, Rossi (2008) também observou variação individual, no que se refere às diferentes características seminais avaliadas, tais como concentração espermática, concentração de espermatozóides móveis, número total de espermatozóides por ejaculado e número total de espermatozóides móveis por ejaculado.

Tabela 24. Características físicas do sêmen e número de doses inseminantes produzidas por jumentos da raça Pêga utilizados no Experimento III.

Parâmetros Avaliados		Jumentos					TOTAL
		1	2	3	4	5	
Nº de ejaculados		18	11	18	11	14	72
Montas/ejaculado		1,39±0,11	1,00±0,15	1,11±0,11	1,36± 0,14	1,14± 0,12	1,21± 0,06
Volume de sêmen (mL)		20,13±1,88 ^c	47,42± 2,40 ^a	10,84±1,88 ^d	31,82±2,40 ^b	11,64±2,13 ^d	22,11± 1,78
Motilidade (%)		83,06±1,13	83,64±1,44	81,94±1,13	79,50±1,51	79,64±1,28	81,69±0,58
Vigor (0-5)		4,61±0,10 ^a	4,64±0,13 ^{ab}	4,47±0,10 ^{ab}	4,25±0,14 ^b	4,25±0,12 ^b	4,46±0,05
Motilidade pós-diluição (%)		81,11±1,09 ^a	81,82±1,39 ^a	79,72±1,09 ^{ab}	77,73±1,39 ^{ab}	75,71±1,23 ^b	79,31±0,59
Nº sptz/mL (x10 ⁶)		1001,11±83,32 ^{ab}	804,55±106,59 ^b	1213,33±83,32 ^a	711,82±106,59 ^b	752,86±94,48 ^b	931,67±46,48
Nº sptz móveis/mL (x10 ⁶)		815,36±70,11 ^{ab}	656,41±89,68 ^b	972,00±70,11 ^a	563,82±89,68 ^b	572,07±79,49 ^b	744,50±39,09
Nº total de sptz/ejac. (x10 ⁶)		18823,50±2083,01 ^{bc}	36374,73±2664,60 ^a	12120,06±2083,01 ^{cd}	21875,00±2664,60 ^b	8464,79±2361,91 ^d	18281,08±1467,81
Nº total de móveis/ejac. (x10 ⁶)		15144,29±1652,36 ^b	29685,63±2113,70 ^a	9679,49±1652,36 ^c	17252,09±2113,70 ^b	6395,81±1873,60 ^c	14620,62±1191,46
Volume de sêmen (mL)	400 x 10 ⁶	0,54±0,14 ^{bc}	0,83±0,18 ^{ab}	0,47±0,14 ^c	0,93±0,18 ^a	0,77±0,16 ^{ab}	0,67±0,05
	800 x 10 ⁶	1,07±0,14 ^{bc}	1,65±0,18 ^{ab}	0,94±0,14 ^c	1,86±0,18 ^a	1,55±0,16 ^{ab}	1,34±0,10
Volume de diluidor (mL)	400 x 10 ⁶	21,46±0,14 ^{ab}	21,17±0,18 ^{bc}	21,53±0,14 ^a	21,07±0,18 ^c	21,23±0,16 ^{bc}	21,33±0,05
	800 x 10 ⁶	20,93±0,14 ^{ab}	20,35±0,18 ^{bc}	21,06±0,14 ^a	20,14±0,18 ^c	20,45±0,16 ^{bc}	20,66±0,10
Número de doses/ejac.	400 x 10 ⁶	37,83±3,27 ^b	74,43±4,18 ^a	24,19±3,27 ^c	43,14±4,18 ^b	15,98±3,70 ^{cd}	36,58±2,98
	800 x 10 ⁶	18,93±3,27 ^{cd}	37,14±4,18 ^b	12,12±3,27 ^{cd}	21,54±4,18 ^{cd}	7,99± 3,70 ^d	18,28± 1,49

^{a,b,c,d} Médias acompanhadas por letras diferentes, na linha, diferem entre si (p<0,05).

^{a,b,c,d} Médias acompanhadas por letras diferentes, na linha e coluna, referentes à variável número de doses por ejaculado, diferem entre si (p<0,05).

No presente experimento, observou-se que o volume da fração rica do ejaculado dos jumentos utilizados variou de 10,84 a 47,42 mL, com uma média de $22,11 \pm 15,12$ mL, sendo inferior ao volume descrito por Moraes et al. (1994b), de $59,88 \pm 15,54$ mL, e Canisso et al. (2010), de $47,30 \pm 28,70$ mL, para o ejaculado total, livre de gel, de jumentos da mesma raça. Assim, a fração rica, no presente experimento, correspondeu a 36,92% e 46,74% do volume total do ejaculado, descrito por Moraes et al. (1994b) e Canisso et al. (2010), respectivamente. Para jumentos da raça Poitou, Trimeche (1996a) observou que o volume da fração rica variou entre 6 e 23 mL, sendo esta variação bem menor que a observada no presente experimento, para jumentos da raça Pêga. Para uma fração rica do ejaculado de jumentos, composta pelos dois primeiros jatos do mesmo, Mello (1998) observou volumes variando entre 9,72 e 47,00 mL. Apesar da fração rica, no presente experimento, incluir o terceiro jato do ejaculado, a variação quanto ao volume desta fração aproxima-se da descrita por Mello (1998), para os dois primeiros jatos.

Comparando-se esta variável entre os cinco jumentos utilizados como doadores de sêmen, observa-se que o jumento dois respondeu pela maior média observada, que apresentou-se superior ($p < 0,05$) às demais. A segunda maior média para o volume de sêmen foi observada para o jumento quatro, seguida pela do jumento um, estando as menores médias associadas aos jumentos três e cinco, que não diferiram ($p > 0,05$) entre si.

A motilidade espermática para o sêmen *in natura* não diferiu ($p > 0,05$) entre os jumentos, com porcentagens médias variando de $79,50 \pm 1,51$ a $83,64 \pm 1,44$. Tais valores estão de acordo com o que tem sido apresentado pela literatura, para o ejaculado total de jumentos da mesma raça, com porcentagens de espermatozóides móveis no ejaculado de 81,93% (Moraes et al., 1994b); de 69,58% a 77,50% (Ferreira, 1993); de 81,33% a 83,64% (Rossi, 2008) e de 74,3% (Canisso et al., 2010). Entretanto, após a diluição do sêmen, observou-se uma discreta redução da

motilidade espermática para todos os indivíduos. Esta queda da motilidade não era esperada, devendo-se, possivelmente, ao reduzido intervalo entre a diluição e a avaliação do sêmen, insuficiente para que se estabelecesse um equilíbrio entre os espermatozóides e o novo meio diluidor. Assim, após a diluição, a motilidade espermática diferiu entre os jumentos, sendo as médias observadas para os jumentos 1 ($81,11 \pm 1,09\%$) e 2 ($81,82 \pm 1,39\%$), superiores ($p < 0,05$) à do jumento 5 ($75,71 \pm 1,23\%$) e, similares entre si. As médias observadas para os jumentos 3 e 4 não diferiram ($p > 0,05$) das demais.

Para a variável vigor espermático (escala 0-5), observou-se uma variação de $4,25 \pm 0,12$ a $4,64 \pm 0,13$, com uma média de $4,46 \pm 0,05$. Realizando-se uma comparação entre os indivíduos, observa-se que o vigor médio do jumento 1 foi superior ($p < 0,05$) ao dos jumentos 4 e 5, que não diferiram entre si ($p > 0,05$). As médias observadas para os jumentos 2 e 3 não diferiram ($p > 0,05$) das médias registradas para os demais reprodutores nem entre si. O vigor espermático médio observado, no presente experimento, para a fração rica do ejaculado de jumentos da raça Pêga, assemelha-se à descrita por Moraes et al. (1994a) para o ejaculado total de asininos, de $4,63 \pm 0,49$, superando, entretanto, a obtida por Canisso et al. (2010), de $3,9 \pm 0,5$.

Em relação à concentração espermática, observou-se na fração rica, coletada no presente experimento, uma variação de $711,82 \pm 106,59$ a $1213,33 \pm 83,32 \times 10^6$, com uma média de $931,67 \pm 46,48 \times 10^6$ espermatozóides por mL de sêmen. Esta média superou a observada no Experimento IIa ($784,64 \pm 79,23 \times 10^6$ spz/mL), quando utilizou-se os mesmos reprodutores. Talvez, a maior adaptação dos reprodutores ao intervalo entre coletas tenha sido responsável por este achado. Este parâmetro também diferiu entre os jumentos, sendo a média do jumento 3 superior ($p < 0,05$) às dos jumentos 2, 4 e 5, que não diferiram ($p > 0,05$) entre si. A concentração espermática observada para o

jumento 1 não diferiu ($p>0,05$) das dos demais reprodutores utilizados no experimento. Comparando-se o número de espermatozoides por mL de sêmen, presentes na fração rica, com o descrito para o ejaculado total, observa-se superioridade para a fração rica. Assim, a concentração espermática por mL de sêmen do ejaculado total de jumentos da raça Pêga variou de $198,71 \times 10^6$ (Rossi, 2008) a $444,11 \pm 182,72 \times 10^6$ spz/mL (Morais et al., 1994b). Para a fração rica composta pelos dois primeiros jatos do ejaculado de jumentos da raça Pêga, Mello (1998) registrou concentrações espermáticas variando de $246,25 \pm 103,07$ a $930,05 \pm 260,53 \times 10^6$ spz/mL. Assim como no Experimento II, no presente experimento, para jumentos da mesma raça, observou-se médias ligeiramente superiores às descritas por Mello (1998). Talvez a presença do terceiro jato, seja responsável por esta diferença.

As variáveis número de espermatozoides móveis/mL, número de espermatozoides/ejaculado e número de espermatozoides móveis/ejaculado, por serem oriundos da concentração espermática por mL, da motilidade e do volume de sêmen, também diferiram ($p<0,05$) entre os jumentos. Ressalta-se que o número total de espermatozoides obtidos da coleta, considerando-se apenas a fração rica, variou de 8,46 a $36,37 \times 10^9$, com média de $18,28 \times 10^9$, sendo esta intermediária às médias descritas por Moraes et al. (1994b) e Canisso et al. (2010), que foram de $24,88 \pm 9,59 \times 10^9$ e $10,3 \times 10^9$ espermatozoides, respectivamente, para o ejaculado total. Para uma fração rica representada apenas pelos dois primeiros jatos do ejaculado, de jumentos da mesma raça, Mello (1998), registrou número total de espermatozoides de 9,04 a $14,35 \times 10^9$ espermatozoides. Comparando-se estes resultados com os obtidos no presente experimento, o maior número de espermatozoides na fração rica do ejaculado, no presente experimento, deve-se, provavelmente a inclusão do terceiro jato na fração rica do ejaculado.

Observou-se, também, que o volume de sêmen da dose inseminante, seja ela de 400 ou 800×10^6 espermatozoides, por ser uma variável dependente da concentração espermática do ejaculado de cada jumento, diferiu ($p<0,05$) entre os indivíduos. Da mesma forma, esta variação também foi observada em relação ao volume de diluidor, uma vez que o volume da dose inseminante foi fixado em 22 mL.

Em relação ao potencial reprodutivo dos jumentos utilizados, observou-se que, para uma dose inseminante apresentando uma concentração de 400×10^6 espermatozoides, o número de doses produzidas, por ejaculado coletado, variou de $15,98 \pm 3,70$ a $74,43 \pm 4,18$, com uma média de $36,58 \pm 2,98$ doses. Para a mesma concentração espermática por dose inseminante, Rossi (2008) obteve, para o ejaculado total de quatro jumentos também da raça Pêga, de 20,46 a 39,00 doses inseminantes/ejaculado. Quando a concentração espermática por dose inseminante foi de 800×10^6 espermatozoides, o número de doses variou de $7,99 \pm 3,70$ a $37,14 \pm 4,18$ doses por ejaculado, com média de $18,28 \pm 1,49$. Ressalta-se, independentemente da concentração espermática por dose inseminante, o alto potencial reprodutivo dos jumentos da raça Pêga, utilizados no presente experimento.

Realizando-se as comparações entre os indivíduos, o maior ($p<0,05$) número de doses produzidas esteve associado ao jumento 2, e o menor ao jumento 5. Diante destes resultados, tem-se a dimensão do impacto da utilização da inseminação artificial em um programa de reprodução assistida, resultando em um maior aproveitamento de reprodutores de alto mérito genético, mesmo quando se utiliza apenas a fração rica do ejaculado.

Com base nos resultados obtidos, quanto ao número total de espermatozoides e ao número de doses produzidas por ejaculado, pode-se afirmar que a fração rica responde pela quase totalidade dos espermatozoides do ejaculado, corroborando com os achados de Mello (1998) quando a fração rica respondeu por

aproximadamente 94% dos espermatozoides totais do ejaculado, em um volume de 57,6% de sêmen. Desta forma, a utilização da coleta fracionada em detrimento da total, não acarreta em prejuízos quanto ao número de doses inseminantes a serem produzidas.

4.3.1.2. Efeito da concentração espermática por dose inseminante sobre as características físicas do sêmen de jumentos, avaliadas a diferentes períodos de estocagem em contêiner proposto por Palhares (1997)

No presente experimento buscou-se avaliar o efeito de duas concentrações espermáticas por dose inseminante, 400 (T1) ou 800 (T2) $\times 10^6$ espermatozoides, em um volume fixo de 22mL/ dose inseminante, bem como o efeito do reprodutor, sobre as características físicas do sêmen fracionado de jumentos, diluído em diluidor LPDG, e armazenado a 5°C, em contêiner proposto por Palhares (1997). Para tal, utilizou-se os mesmos cinco jumentos da raça Pêga, participantes dos Experimentos I e II, sendo as características de vigor e motilidade espermáticas avaliadas para o sêmen a fresco, após a pré-diluição, sendo estas duas avaliações idênticas entre os tratamentos, e nos períodos pré-inseminação, após 24 horas e 48 horas de armazenamento do sêmen à 5°C, estando estes valores apresentados nas Tabelas 25 e 26.

No que se refere à motilidade espermática (Tabela 25), observa-se que, independentemente do jumento e da concentração espermática por dose inseminante, ocorreu uma redução ($p<0,05$) da motilidade ao longo do período de armazenamento. Assim, observou-se que, para o jumento 1, a queda da motilidade espermática ($p<0,05$), em relação ao sêmen fresco, se deu a partir das 24 horas de armazenamento, para o tratamento T1, enquanto para o tratamento T2, esta queda ($p<0,05$) já foi observada no período de avaliação pré-inseminação. Também para o jumento 3, independentemente do tratamento, uma queda da motilidade ($p<0,05$) em relação

ao sêmen fresco, foi observada já no período de avaliação pré-inseminação.

Para o sêmen oriundo do jumento 2, a motilidade espermática se manteve estável até as 24 horas de armazenamento para o tratamento T1, enquanto para o tratamento T2, observou-se uma redução da motilidade espermática que neste período de avaliação apresentou-se inferior ($p<0,05$) à do sêmen fresco. Comportamento similar foi observado para o jumento 4, quando a motilidade espermática se manteve estável até as 24 horas de armazenamento, independentemente do tratamento, sendo sua queda observada ($p<0,05$) em relação ao sêmen a fresco, apenas no período de avaliação de 48 horas. Para o jumento 5, a primeira redução da motilidade espermática ($p<0,05$), em relação ao sêmen a fresco, foi observada às 24 horas de armazenamento, sendo este comportamento similar entre os tratamentos.

Ao realizar-se a comparação da motilidade espermática, entre jumentos e tratamentos, para cada um dos períodos de avaliação, observa-se que, nos períodos de avaliação do sêmen a fresco e após a pré-diluição, a motilidade espermática foi similar ($p>0,05$) entre jumentos e tratamentos. No período pré-inseminação, a motilidade espermática não diferiu ($p>0,05$) entre tratamentos, para um mesmo jumento; entretanto, a motilidade do sêmen obtido do jumento 3 e submetido ao tratamento T2, foi inferior ($p<0,05$) à observada para o jumento 2, independentemente do tratamento à que as amostras de sêmen foram submetidas. No mais, não observou-se diferenças ($p>0,05$) entre tratamentos e jumentos para o mesmo período (pré-IA).

Às 24 horas de armazenamento, a motilidade espermática observada para o sêmen do jumento 2, submetido ao tratamento T1, foi superior ($p<0,05$) à observada para os jumentos 1 e 5, no tratamento T2, e para o jumento 3, independentemente do tratamento. A menor motilidade espermática observada neste período de avaliação ($60,00\pm 1,78\%$), esteve associada ao jumento 3 e ao tratamento

T2, que foi inferior ($p < 0,05$) às médias observadas para os jumentos 2 e 4, independentemente do tratamento. Também neste período, a motilidade espermática não diferiu ($p > 0,05$), entre tratamentos, para um mesmo jumento.

No período de avaliação de 48 horas, mais uma vez não observou-se efeito ($p > 0,05$) do tratamento sobre a motilidade espermática, quando a comparação foi realizada dentro de jumento. Neste período, a maior porcentagem de espermatozóides móveis foi observada para o sêmen do jumento 2 no tratamento T1 ($55,00 \pm 2,37\%$), que foi superior ($p < 0,05$) às observadas para os jumentos 1, independentemente do tratamento e para os jumentos 3 e 5 no tratamento T2. O menor valor de motilidade espermática esteve associada ao jumento 1, no tratamento T2 ($41,00 \pm 1,84$), valor este inferior ($p < 0,05$) aos observados para os jumentos 2, independentemente do tratamento, e 5, no tratamento T1.

Para a variável vigor espermático (escala de 0 - 5), observa-se na Tabela 26, uma queda deste parâmetro ao longo do período de armazenamento, independentemente do jumento e do tratamento. Para todos os jumentos utilizados no presente experimento, e independentemente da concentração espermática/dose inseminante utilizada, o vigor espermático não diferiu ($p > 0,05$) entre os períodos de avaliação do sêmen a fresco e após a pré-diluição, sendo a primeira queda ($p < 0,05$) do vigor observada no período correspondente à avaliação pré-inseminação (média 16,25 horas).

Para os jumentos 1 e 2, o vigor espermático não diferiu ($p > 0,05$) entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 24 horas, independentemente do tratamento. Entretanto, estes valores foram superiores ($p < 0,05$), ao vigor espermático observado após 48 horas de armazenamento do sêmen a 5°C. Para o sêmen obtido do jumento 3, o vigor espermático foi similar ($p > 0,05$) entre os

períodos de avaliação pré-inseminação e 24 horas, para o sêmen submetido ao tratamento T1, observando-se uma queda ($p < 0,05$) do vigor espermático no período de avaliação de 48 horas. Para o sêmen do jumento 3, submetido ao tratamento T2, o vigor espermático diferiu ($p < 0,05$) entre as avaliações realizadas pré-inseminação e às 24 horas de armazenamento, sendo similares entre os dois últimos períodos de avaliação (24 e 48 horas). Comportamento similar foi observado para o sêmen do jumento 4, observando-se, entretanto, uma queda do vigor espermático entre os períodos de avaliação 24 e 48 horas, independentemente do tratamento ao qual o sêmen foi submetido. Para o sêmen obtido do jumento 5, o vigor espermático foi similar ($p > 0,05$) entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 24 horas, no tratamento T2, observando-se uma queda ($p < 0,05$) deste parâmetro entre os dois últimos períodos de avaliação, ou seja de 24 para as 48 horas de armazenamento. Para o sêmen submetido ao tratamento T1, o vigor espermático diferiu ($p < 0,05$) entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 24 horas, embora tenha permanecido estável entre os dois últimos períodos de avaliação (24 e 48 horas).

Ao comparar-se o vigor espermático entre jumentos e tratamentos, nos diferentes períodos de avaliação, observou-se que nos períodos de avaliação fresco e após a pré-diluição, apenas o efeito do jumento foi observado, sendo o vigor espermático similar ($p > 0,05$) entre os tratamentos para um mesmo jumento. Também no período de avaliação pré-inseminação observou-se efeito do jumento sobre o vigor espermático, somente havendo diferença ($p < 0,05$) entre tratamentos para o jumento 4, quando o maior valor de vigor espermático esteve associado ao tratamento T2. Após 24 e 48 horas de armazenamento do sêmen a 5°C, apenas o efeito do jumento se manteve sobre o vigor espermático, não observando-se efeito do tratamento sobre esta variável.

Tabela 25. Efeito do jumento e da concentração espermática por dose inseminante sobre a motilidade espermática do sêmen fracionado de jumentos da raça Pêga, avaliada após a coleta (Fresco), após a pré-diluição (PD), previamente à inseminação artificial (Pré-IA) e à diferentes períodos de estocagem do sêmen à 5°C (24 e 48 horas), em contêiner proposto por Palhares (1997).

Tratamento	Jumentos									
	J1		J2		J3		J4		J5	
	T1 ^x	T2 ^y	T1	T2	T1	T2	T1	T2	T1	T2
Fresco	83,06±1,68 ^{Aa}	83,06±1,68 ^{Aa}	83,64±2,14 ^{Aa}	83,64±2,14 ^{Aa}	81,94±1,68 ^{Aa}	81,94±1,68 ^{Aa}	79,50±2,25 ^{Aa}	79,50±2,25 ^{Aa}	79,64±1,90 ^{Aa}	79,64±1,90 ^{Aa}
PD	81,11±1,68 ^{Aa}	81,11±1,68 ^{Aa}	81,82±2,14 ^{Aa}	81,82±2,14 ^{Aa}	79,72±1,68 ^{ABa}	79,72±1,68 ^{Aa}	77,73±2,14 ^{Aa}	77,73±2,14 ^{Aa}	75,71±1,90 ^{ABa}	75,71±1,90 ^{Aa}
Pré-IA	74,72±1,68 ^{ABab}	70,83±1,68 ^{Bab}	78,18±2,14 ^{Aa}	77,27±2,14 ^{ABa}	70,56±1,68 ^{BCab}	67,78±1,68 ^{Bb}	76,36±2,14 ^{Aab}	75,00±2,14 ^{Aab}	71,79±1,90 ^{ABab}	70,77±1,90 ^{ABab}
24 horas	68,44±1,78 ^{Babc}	66,07±1,90 ^{Bbc}	76,88±2,51 ^{Aa}	71,50±2,25 ^{Bab}	66,76±1,73 ^{Cbc}	60,00±1,78 ^{Bc}	73,18±2,14 ^{Aab}	71,00±2,25 ^{Aab}	68,33±2,05 ^{Babc}	66,00±2,25 ^{Bbc}
48 horas	44,71±1,73 ^{Ccd}	41,00±1,84 ^{Cd}	55,00±2,37 ^{Ba}	54,55±2,14 ^{Cab}	47,22±1,68 ^{Dabcd}	44,06±1,78 ^{Ccd}	49,55±2,14 ^{Babcd}	49,00±2,25 ^{Babcd}	51,92±1,97 ^{Cabc}	46,00±2,25 ^{Cbcd}

^{A,B,C} Médias seguidas por letras maiúsculas distintas, na coluna, diferem entre si (p<0,05).

^{a,b,c,d} Médias seguidas por letras minúsculas distintas na linha, diferem entre si (p<0,05).

^x 400 x 10⁶ espermatozóides/dose inseminante.

^y 800 x 10⁶ espermatozóides/ dose inseminante.

Tabela 26. Efeito do jumento e da concentração espermática por dose inseminante sobre o vigor espermático do sêmen fracionado de jumentos da raça Pêga, avaliado após a coleta (Fresco), após a pré-diluição (PD), previamente à inseminação artificial (Pré-IA) e à diferentes períodos de estocagem do sêmen à 5°C (24 e 48 horas), em contêiner proposto por Palhares (1997).

Tratamento	Jumentos									
	J1		J2		J3		J4		J5	
	T1 ^x	T2 ^y	T1	T2	T1	T2	T1	T2	T1	T2
Fresco	4,61±0,09 ^{Aa}	4,61±0,09 ^{Aa}	4,64±0,11 ^{Aab}	4,64±0,11 ^{Aab}	4,47±0,09 ^{Aabc}	4,47±0,09 ^{Aabc}	4,25±0,12 ^{Abc}	4,25±0,12 ^{Abc}	4,25±0,10 ^{Ac}	4,25±0,10 ^{Ac}
PD	4,61±0,09 ^{Aab}	4,61±0,09 ^{Aab}	4,77±0,11 ^{Aa}	4,77±0,11 ^{Aa}	4,69±0,09 ^{Aa}	4,69±0,09 ^{Aa}	4,64±0,11 ^{Aab}	4,64±0,11 ^{Aab}	4,32±0,10 ^{Ab}	4,32±0,10 ^{Ab}
Pré-IA	3,64±0,09 ^{Bbcd}	3,72±0,09 ^{Bbcd}	3,95±0,11 ^{Bab}	4,05±0,11 ^{Ba}	3,50±0,09 ^{Bcd}	3,75±0,09 ^{Babcd}	3,50±0,11 ^{Bd}	3,82±0,11 ^{Babc}	3,71±0,10 ^{Bbcd}	3,88±0,10 ^{Bab}
24 horas	3,41±0,10 ^{Bbcd}	3,57±0,10 ^{Babc}	3,63±0,13 ^{BCabc}	3,75±0,12 ^{Ba}	3,29±0,09 ^{Bcd}	3,34±0,09 ^{Ccd}	3,36±0,11 ^{Bcd}	3,45±0,12 ^{Cbcd}	3,42±0,11 ^{Cbcd}	3,70±0,12 ^{Bab}
48 horas	2,97±0,10 ^{Cb}	2,97±0,10 ^{Cb}	3,22±0,12 ^{Cab}	3,27±0,11 ^{Ca}	3,14±0,09 ^{Ca}	3,13±0,09 ^{Cab}	3,09±0,11 ^{Cab}	3,00±0,12 ^{Dab}	3,19±0,10 ^{Ca}	3,30±0,12 ^{Ca}

^{A,B,C,D} Médias seguidas por letras maiúsculas distintas, na coluna, diferem entre si (p<0,05).

^{a,b,c,d} Médias seguidas por letras minúsculas distintas na linha, diferem entre si (p<0,05).

^x 400 x 10⁶ espermatozóides/dose inseminante.

^y 800 x 10⁶ espermatozóides/ dose inseminante.

Quando mantidos no fluido seminal sem nenhuma diluição, os espermatozóides não sobrevivem por mais de 12 horas (Heiskanen et al., 1987). A sua morte rápida é causada por condições de pH desfavoráveis levando à estimulação constante, pela ausência de anabiose natural e desintegração da cápsula lipídica e pela escassez de glicose, resultando em rápido consumo das fontes de energia (possivelmente lipídicas). Assim, qualquer técnica de estocagem do sêmen deve ser baseada na neutralização dessas influências (Palhares, 1997).

No presente experimento, independentemente da concentração espermática/dose inseminante adotada durante a estocagem do sêmen, obteve-se motilidade espermática superior a 40% e vigor próximo a 3, até às 48 horas de armazenamento à 5°C, excetuando-se o jumento 1, que apresentou vigor inferior a 3. Estes resultados foram similares aos observados no Experimento IIa e demonstram que o protocolo adotado neste experimento, envolvendo a coleta fracionada do sêmen, a sua diluição em diluidor LPDG e a utilização do contêiner de transporte proposto por Palhares (1997), propiciaram condições adequadas para o armazenamento do sêmen asinino, de forma a manter a viabilidade espermática até às 48 horas de armazenamento.

Em equídeos, os efeitos do plasma seminal durante o armazenamento do sêmen podem ser minimizados utilizando-se três processos: a) a colheita fracionada (Tischner et al., 1974; Varner et al., 1987; Mello, 1998; Mello et al., 2000), quando coleta-se apenas a fração rica em espermatozóides; b) centrifugação do sêmen com eliminação total ou parcial do plasma seminal, associada a ressuspensão dos espermatozóides em diluidor apropriado (Pickett et al., 1975; Padilla e Foote, 1991; Jasko et al., 1992a; Brinsko et al., 2000; Moore et al., 2005b) e, finalmente, c) a utilização de uma taxa de diluição ideal, capaz de diminuir os efeitos tóxicos do plasma seminal e de subprodutos do metabolismo, sobre as células espermáticas (Palmer, 1984; Jasko et al., 1991).

Embora a centrifugação possa ter efeitos negativos sobre a atividade espermática (McLeod e MacGee, 1950), vários estudos têm apresentado resultados favoráveis acompanhando a sua utilização. Assim, Jasko et al. (1991) relataram que a diluição do ejaculado total a uma concentração final de 50×10^6 espermatozóides/mL foi inferior quanto à manutenção da motilidade espermática, em relação a um tratamento utilizando a centrifugação do sêmen e remoção do plasma seminal, previamente à sua diluição e resfriamento. Além disso, para ejaculados com baixa concentração, a remoção do plasma seminal por meio da centrifugação pode ser benéfica para que se possa atingir uma concentração espermática ideal após a diluição do sêmen, uma vez que altas taxas de diluição foram associadas à redução da fertilidade (Jasko et al., 1992b).

Na espécie asinina, Ferreira et al. (1991), avaliaram o efeito da centrifugação sobre a motilidade e vigor espermáticos de três jumentos. Sendo a diluição final ajustada para uma concentração de 25×10^6 espermatozóides/mL, o sêmen diluído em diluidor a base de leite em pó desnatado-glicose, apresentou uma motilidade total inferior à 10%, às 120 e 168 horas, para o sêmen não centrifugado e centrifugado, respectivamente. Independentemente do processamento, o vigor não diferiu entre os tratamentos, sendo inferior a 1 (escala de 0 a 5) às 48 horas de armazenamento. Diferentemente, observou-se no presente experimento, que o vigor espermático do sêmen fracionado foi mantido acima de 3 até às 48 horas de armazenamento à 5°C, utilizando-se o mesmo diluidor, em quatro dos cinco jumentos avaliados.

O efeito da presença do plasma seminal sobre os espermatozóides resfriados de asininos, foi um dos objetivos de pesquisa realizada por Dalmau (2003). Ao compararem os espermatozóides oriundos do ejaculado total, submetido ou não à centrifugação, com os oriundos da fração rica, observaram maior viabilidade espermática nas amostras

armazenadas, na ausência de plasma seminal, ao desconsiderarem o efeito do diluidor. Uma motilidade progressiva igual ou superior a 30% foi mantida por um tempo médio de 37,05 horas para o sêmen centrifugado, valor superior às 27,90 horas observadas para a fração rica, que por sua vez superou às 22,30 horas, obtidas quando utilizou-se o ejaculado total. Comparando-se os resultados obtidos por Dalmau (2003) com os do presente experimento, observa-se que a associação entre a coleta fracionada e o diluidor LPDG, independentemente da concentração espermática por dose inseminante, resultou em uma viabilidade espermática por até 48 horas, tempo este superior ao obtido pela autora supracitada, utilizando a centrifugação do sêmen, o ejaculado fracionado ou o ejaculado total, desconsiderando-se o efeito do diluidor. Entretanto, neste mesmo experimento, uma viabilidade espermática superior a 90 horas foi observada para o sêmen centrifugado diluído no diluidor INRA82® e resfriado a 4°C.

Contri et al. (2010) adotaram o protocolo de centrifugação previamente à diluição do sêmen asinino em dois diluidores comerciais a base de leite desnatado (INRA96® ou E-Z Mixin®). Durante o armazenamento à 5°C, observaram que, independentemente do diluidor utilizado, houve uma redução gradativa dos parâmetros cinemáticos avaliados até às 96 horas de armazenamento, sendo estes valores similares aos observados às 120 horas. Comportamento similar foi observado no presente experimento, quando observou-se uma redução gradativa da motilidade e do vigor espermáticos, ao longo do período de armazenamento do sêmen. Os mesmos autores citados anteriormente obtiveram uma motilidade espermática progressiva superior à 30% por até 120 horas de armazenamento a 5°C, na presença do diluidor INRA96®, e por até 48 horas, quando utilizou-se o diluidor E-Z-Mixin®. Os resultados obtidos no presente experimento, com a utilização da coleta fracionada e do diluidor LPDG, foram superiores aos obtidos por Contri et al. (2010) quando da utilização do diluidor E-Z-Mixin®.

Entretanto, o menor período de avaliação adotado neste experimento impede a sua comparação com os resultados apresentados quando da utilização do diluidor INRA96®, por Contri et al. (2010).

A diluição do ejaculado total em um diluidor adequado têm sido o principal procedimento utilizado para se reduzir os efeitos do plasma sobre os espermatozóides, principalmente quando se objetiva o resfriamento e transporte do sêmen (Silva Filho, 1994). O efeito positivo da diluição do sêmen sobre a motilidade espermática se dá pela ausência de inibição do metabolismo espermático (Varner et al., 1987). A diluição de até 25×10^6 espermatozóides/mL foi benéfica; entretanto, quando adotadas taxas de diluição mais altas observou-se efeitos nocivos sobre os espermatozóides. O “efeito diluição”, como é denominado este fenômeno, tem sido bem caracterizado em várias espécies (Salisbury et al., 1943; Mihailov, 1950), cursando com a redução da viabilidade espermática (Mann, 1964). A presença de substâncias no diluidor, tais como o leite, gema de ovo e proteínas séricas aumentam de maneira considerável a resistência espermática aos efeitos deletérios de uma alta taxa de diluição (Varner et al., 1987). Por outro lado, uma taxa de diluição baixa também resulta em baixa viabilidade espermática devido à carência de substratos energéticos e à perda da capacidade tamponante do meio (Flowers, 1996; Levis, 1997).

Em equinos, foi demonstrado melhor manutenção da motilidade espermática quando os espermatozóides equinos foram diluídos à concentrações entre 25 e 50×10^6 espermatozóides/mL de sêmen diluído, em detrimento de 100×10^6 (Varner et al., 1987). No presente experimento, ao fixar-se o volume da dose inseminante em 22 mL, considerando-se uma concentração espermática média, no ejaculado fracionado, de $931,67 \times 10^6$ espermatozóides/mL e um volume de sêmen por dose inseminante de 0,67 e 1,34 (Tabela 24), para os tratamentos T1 e T2, obteve-se uma concentração espermática final de 28,37 e 56,75 milhões de

espermatozoides/ mL nas doses inseminantes contendo 400 e 800 x 10⁶ espermatozoides móveis, respectivamente. Assim, observa-se que apenas o tratamento T1 atendeu à concentração espermática/ mL de sêmen diluído preconizada por Varner et al. (1987), enquanto a concentração obtida para o tratamento T2 extrapolou o limite máximo de 50 x 10⁶ espermatozoides/ mL de sêmen diluído. Entretanto, analisando-se as Tabelas 25 e 26, observa-se que a motilidade espermática não diferiu entre os tratamentos, para um mesmo jumento, até o período final de armazenamento do sêmen, sendo o efeito do tratamento sobre o vigor espermático observado apenas em um dos períodos de avaliação (pré-inseminação) para um dos cinco jumentos utilizados (jumento 4). Salienta-se ainda, que os valores de motilidade espermática obtidos no presente experimento foram superiores aos obtidos por Varner et al. (1987), que observaram motilidade total de 22, 31 e 45%, às 24 horas de armazenamento, para os tratamentos envolvendo taxas de diluição de 25, 50 e 100 x 10⁶ espermatozoides/ mL. Estes achados podem ser explicados pelas diferentes temperaturas de armazenamento do sêmen, de 25°C, no trabalho de Varner et al. (1987), e de 5°C no presente experimento, bem como por diferenças entre as espécies, sendo o trabalho de Varner et al. (1987) conduzido na espécie equina.

Único na literatura, o estudo de Beker (1997) avaliou o efeito de diferentes concentrações espermáticas por mL de sêmen diluído (25, 50 ou 100 x 10⁶ spz/mL) sobre as características físicas da fração rica do sêmen asinino, diluída em diluidor a base de gema de ovo e resfriada a 5°C. Quando se comparou a motilidade total pós-diluição e pós-resfriamento, observou-se superioridade para as menores concentrações (25 e 50 x 10⁶ spz/mL). Entretanto, nos dias 2, 3 e 4 pós-coleta, a motilidade total foi maior nas concentrações espermáticas de 50 e 100 x 10⁶ spz/mL. A partir do quinto dia de armazenamento, a concentração espermática não interferiu sobre a motilidade total. Para a variável vigor espermático houve tendência

de superioridade nas concentrações envolvendo 50 e 100 x 10⁶ spz/mL, nos dias 1, 2, 4 e 5 pós-coleta. Assim, baseando-se nos resultados de Beker (1997) e nos obtidos no presente experimento, pode-se estabelecer que concentrações mais altas que as preconizadas por Varner et al. (1987) foram capazes de manter boa viabilidade espermática *in vitro* (Tabelas 25 e 26), e taxas de gestação adequadas (Tabela 27), como as obtidas no experimento IIIb, para o tratamento utilizando 800 x 10⁶ espermatozoides/ dose inseminante.

No sêmen asinino, Miró et al. (2009) avaliaram o efeito de diferentes taxas de diluição (1:1, 1:5 ou 1:10) ou da remoção do plasma seminal por centrifugação, com ressuspensão das células espermáticas a uma concentração de 25 x 10⁶ espermatozoides/ mL. Para tal, utilizou um diluidor a base de leite em pó desnatado- glicose (Kenney et al., 1975), sendo o sêmen resfriado a 5°C por até 72 horas. Às 24 horas, observou-se uma maior taxa de sobrevivência espermática nas amostras mais diluídas e na submetida à centrifugação (1:1- 48,71%; 1:5 - 56,58%, 1:10 - 62,65%; Centrifugada - 72,40%). As diferenças se mantiveram até às 48 horas (1:1 - 34,31%, 1:5 - 40,56%, 1:10 - 48,52%, Centrifugada - 66,30%). Os resultados obtidos, no presente experimento, são similares aos obtidos por Miró et al. (2009), para as diferentes taxas de diluição utilizadas, sendo inferiores, entretanto, aos obtidos quando da centrifugação do sêmen.

Os resultados obtidos no presente experimento demonstram que o sêmen fracionado de jumentos da raça Pêga, diluído em diluidor LPDG, e armazenado a 5°C, manteve uma motilidade espermática superior à 40% e vigor próximo a 3, independentemente da concentração espermática/dose inseminante de 22mL - 400 ou 800 x 10⁶ espermatozoides, por até 48 horas. Estes achados corroboram com os obtidos por Beker (1997), de que o sêmen asinino tolera maiores concentrações espermáticas/mL de sêmen diluído (entre 50 e 100 x 10⁶ células), que as propostas por

Varner et al. (1987) para o sêmen equino – entre 25 e 50 x 10⁶ células/mL. Além disso, estes resultados encorajam a utilização do sêmen fracionado, diluído em LPDG, resfriado a 5°C, e armazenado por até 48 horas para a inseminação de éguas, representando um grande avanço no que diz respeito ao transporte do sêmen a longas distâncias. Ressalta-se ainda, que a utilização de um menor intervalo entre inseminações e entre inseminação-ovulação, talvez possibilite a obtenção de melhores taxas de gestação.

4.3.2. Experimento IIIb. Efeito da concentração espermática por dose inseminante sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen asinino diluído, resfriado e estocado, em contêiner proposto por Palhares (1997)

Avaliou-se, neste experimento, o efeito da concentração espermática por dose inseminante e do jumento sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen asinino diluído em diluidor LPDG, resfriado e armazenado a 5°C, no contêiner proposto por Palhares para o resfriamento e transporte do sêmen equino. Para tal, foram utilizados 79 ciclos de 59 éguas, distribuídas uniformemente entre os tratamentos, de acordo com o jumento a ser utilizado, após agrupamento por idade e categoria reprodutiva. Utilizou-se como doadores de sêmen os mesmos cinco jumentos da raça Pêga, utilizados nos Experimentos I e II, estando as características físicas do sêmen destes reprodutores apresentadas na Tabela 23. Similarmente ao que utilizou-se no Experimento II, no presente experimento, o tempo de armazenamento do sêmen (intervalo da coleta do sêmen à inseminação artificial), foi de no mínimo 12 horas e no máximo 24 horas.

Os parâmetros de controle e de resultados das éguas inseminadas, por jumento e tratamento, estão apresentados na Tabela 32 dos Anexos. As significâncias estatísticas das variáveis incluindo jumento, tratamento (dose

inseminante) e suas interações foram testadas pelo modelo multivariável GLM.

Em relação aos parâmetros de controle (Tabela 32 dos Anexos), com exceção do número de espermatozóides/ dose inseminante e do número de inseminações por ciclo estral, não observou-se para os demais parâmetros (idade das éguas, volume de sêmen e volume de diluidor/ dose inseminante, tempo da coleta à pré-diluição, à diluição final, ao resfriamento e à inseminação) interação entre jumento e tratamento. O mesmo foi observado para os parâmetros de resultado (taxa de gestação/ciclo e ciclos/gestação). Assim, para estas variáveis, foi possível a comparação entre jumentos, independentemente da concentração da dose inseminante e entre doses inseminantes, independentemente de jumento (Tabelas 27 e 28).

4.3.2.1. Efeito da dose inseminante sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen asinino diluído, resfriado e estocado, em contêiner proposto por Palhares (1997), independentemente do jumento utilizado

Observa-se na Tabela 27 que os parâmetros de controle referentes ao volume de sêmen, volume de diluidor e número de espermatozóides/ dose inseminante diferiram ($p<0,05$) entre os tratamentos. Assim, para o tratamento 400, utilizou-se doses inseminantes contendo, em média, $402,81 \pm 0,78 \times 10^6$ espermatozóides móveis, valor inferior ao do tratamento 800, com média de $810,29 \pm 3,99 \times 10^6$ espermatozóides móveis/ dose inseminante.

Os demais parâmetros de controle envolvendo a idade das éguas inseminadas, o intervalo da coleta do sêmen à sua pré-diluição, à diluição final, ao resfriamento e à inseminação artificial, não diferiram ($p>0,05$) entre si, demonstrando-se homogeneidade entre os tratamentos.

Tabela 27. Parâmetros de controle e de resultados de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, considerando-se o efeito da concentração espermática/dose inseminante, independentemente do jumento utilizado.

Parâmetros Avaliados	Tratamento	
	400	800
Nº ciclos	41	38
Idade (anos)	10,16±0,54	10,30±0,59
Vol. sêmen/ dose (mL)	0,65±0,04 ^b	1,46±0,09 ^a
Vol. diluidor/ dose (mL)	21,35±0,04 ^a	20,54± 0,06 ^b
Sptz móveis/dose (x10 ⁶) pré-resfriamento	402,81±0,78 ^b	810,29±3,99 ^a
Sptz móveis/dose no momento da IA (x10 ⁶ , min.)	280	520
Coleta - pré (min)	2,84±0,08	2,92±0,10
Coleta - diluição (min)	14,83±0,49	15,64±0,50
Coleta -resfriamento (min)	18,21±0,46	18,96±0,48
Coleta - IA (h)	18,50±0,19	18,37±0,17
Ciclos/gestação	2,41	2,11
Taxa de gestação/ciclo (%)	41,46 (17/41)	47,37 (18/38)

^{a,b} Médias acompanhadas por letras diferentes na linha, diferem entre si (p<0,05).

No que se refere aos parâmetros de resultados, a taxa de gestação por ciclo e o número de ciclos por gestação também não diferiram (p>0,05) entre os tratamentos.

Não há um consenso entre os pesquisadores a respeito das concentrações espermáticas ideais para a obtenção da eficiência reprodutiva máxima. Além disso, a utilização de uma variedade de protocolos experimentais, com diferentes diluidores, a qualidade do sêmen, a individualidade do garanhão e o momento da inseminação podem ser responsáveis pelas divergências entre os resultados obtidos com a utilização de diferentes doses inseminantes. De acordo com Voss et al. (1981) e Arns et al. (1987), a manutenção de um número suficiente de espermatozóides com motilidade progressiva no momento da inseminação artificial deve propiciar uma boa fertilidade, sob condições de manejo reprodutivo adequado. Entretanto, não está estabelecido qual seria este número mínimo, para cada tipo de sêmen (fresco, resfriado ou congelado).

Em um estudo conduzido por Demick et al. (1976), utilizou-se o sêmen a fresco diluído ou resfriado, obtendo-se uma taxa de

concepção de 63,9% para as éguas inseminadas com 100 x 10⁶ espermatozóides móveis, em 2,5mL, que não diferiu da de 75,0%, obtida quando as éguas foram inseminadas com 500 x 10⁶ espermatozóides, em um volume de 12,2 mL. Pace e Sullivan (1975) observaram incremento da taxa de nascimento em éguas inseminadas com sêmen congelado, quando aumentaram a dose inseminante de 40 x 10⁶ para 80 x 10⁶ espermatozóides; entretanto, o aumento da dose inseminante para 160 x 10⁶ espermatozóides não resultou em ganhos adicionais.

Para o sêmen equino, Palmer (1984) preconiza doses inseminantes contendo 400 x 10⁶ espermatozóides em um volume de 20 mL, com a qual obtiveram taxas de concepção de 69% para o sêmen armazenado por até oito horas. No presente experimento, a taxa de gestação obtida com a mesma dose inseminante foi inferior (41,46%) à obtida por Palmer (1984), entretanto, para um maior tempo de armazenamento, de aproximadamente 18 horas.

Também para equinos, Douglas-Hamilton et al. (1984) recomendaram concentrações de 1

a $1,5 \times 10^9$ espermatozoides/dose inseminante, na expectativa de que 50% deles sobrevivessem ao processo de resfriamento e transporte do sêmen. Assim, cerca de 500 a 750×10^6 espermatozoides móveis seriam utilizados no momento da inseminação. Com esta tecnologia obtiveram taxas de concepção ao primeiro ciclo e total de 65 e 91%, respectivamente. No presente experimento, as doses inseminantes foram calculadas com base na motilidade espermática após a diluição, não sendo feito ajuste na concentração espermática por dose inseminante, com base na motilidade espermática no momento da inseminação, uma vez que as doses inseminantes eram armazenadas individualmente no contêiner. Com base nos resultados do Experimento IIIa, observou-se que mais de 50% dos espermatozoides oriundos da fração rica do ejaculado sobreviveram ao processo de resfriamento (>70%, no tratamento 1, e >65%, no tratamento 2), sendo que, no momento da inseminação, no mínimo 280 ou 520×10^6 espermatozoides móveis estavam presentes, para os tratamentos 400 ou 800×10^6 espermatozoides, respectivamente.

Ao utilizar a fração rica do ejaculado de garanhões, Heinskanen et al. (1994) obtiveram uma taxa de concepção de 65% por ciclo, para o sêmen armazenado por até 70 ou 80 horas, quando a motilidade progressiva média foi de $29 \pm 11\%$. Este resultado foi possível devido à utilização de doses inseminantes contendo 2×10^9 espermatozoides totais. Assim, pode ser que, para períodos mais longos de armazenamento, seja necessário o aumento do número de espermatozoides totais por dose inseminante, de modo a manter um número mínimo de espermatozoides móveis no momento da inseminação.

Para o sêmen asinino a fresco diluído, Leite (1994), utilizou doses inseminantes contendo 50, 100, 200, 400 ou 600×10^6 espermatozoides com motilidade progressiva. As taxas de concepção proporcionadas pelas inseminações com 50 ou 100×10^6 espermatozoides por dose, de 3,44% e

20,68%, respectivamente, diferiram ($p < 0,05$) das obtidas com as doses contendo 200, 400 ou 600×10^6 espermatozoides com motilidade progressiva, de 53,12%; 70% e 67,64%, respectivamente. Assim, quando da utilização do sêmen asinino a fresco e diluído, observou-se influência do número de espermatozoides com motilidade progressiva sobre as taxas de concepção por ciclo estral, até atingir-se o número de 200×10^6 espermatozoides móveis/dose inseminante. As taxas de gestação obtidas no presente experimento foram similares às obtidas por Leite (1994), quando utilizou-se doses inseminantes contendo 200×10^6 espermatozoides móveis; entretanto, ressalta-se a utilização do sêmen resfriado no presente experimento. Da mesma forma que observado no presente experimento, o aumento da dose inseminante realizado por Leite (1994) não resultou em incremento da fertilidade uma vez mantido um número mínimo de espermatozoides móveis por dose inseminante de 200×10^6 .

Silva (1988) utilizou doses inseminantes contendo no mínimo 200×10^6 espermatozoides móveis em um volume de 5 a 10 mL, para a inseminação de éguas com sêmen de asininos a fresco diluído em diluidor a base de lactose-gema de ovo, quando obteve taxas de concepção, ao primeiro ciclo, de 52,4%, 52,2% e 68,5%, para três estações de monta consecutivas. Também para inseminação de éguas com sêmen asinino a fresco diluído, Díaz et al. (2009) utilizaram uma dose inseminante de 25mL, contendo 250×10^6 sptz/dose, e obtiveram uma taxa de concepção total de 53,80%. Observa-se que as taxas de gestação/ciclo obtidas no presente experimento, de 41,46% e 47,27%, para os tratamentos utilizando 280 e 520×10^6 espermatozoides móveis/ dose inseminante, respectivamente, foram ligeiramente inferiores às obtidas nas duas primeiras estações de monta realizadas por Silva (1988) e as obtidas por Díaz et al. (2009), podendo esta diferença ser atribuída ao resfriamento do sêmen, por aproximadamente 18 horas, realizado neste experimento.

Ferreira (1993) utilizou doses inseminantes de 250×10^6 espermatozóides com motilidade progressiva, no momento da inseminação, para a avaliação da fertilidade de éguas inseminadas com sêmen a fresco diluído de asininos, ou diluído e resfriado por 24 ou 48 horas. O volume médio das doses inseminantes foi de 14,27; 18,34 e 20,22mL, obtendo-se taxas de concepção, por ciclo, de 82,70%; 80,00% e 75,90%, respectivamente. Ressalta-se a utilização de apenas um reprodutor neste experimento, cuja excepcional fertilidade pode ter sido responsável pelos ótimos resultados obtidos. Ainda em relação ao sêmen asinino resfriado, Boeta e Quintero (2000) utilizaram doses inseminantes de 10 mL contendo 400×10^6 de espermatozóides asininos para a inseminação de éguas. Neste experimento, obtiveram taxa de concepção, ao primeiro ciclo, de 54,5% para o sêmen diluído em diluidor de leite desnatado-glicose, sendo o sêmen armazenado por até 48 horas à 5°C, fertilidade similar à obtida, no presente experimento, quando da utilização de doses inseminantes contendo 280 ou 520×10^6 espermatozóides móveis. Entretanto, o sêmen diluído em leite UHT, resultou em melhor taxa de concepção, ao primeiro ciclo, de 76,5%. Assim como no experimento conduzido por Ferreira (1993), no estudo de Boeta e Quintero (2000) apenas um jumento foi utilizado como doador de sêmen.

Também utilizando doses inseminantes contendo 400×10^6 espermatozóides móveis/dose inseminante, contudo, em um volume de 20 mL, Rossi (2008) obteve taxas de concepção/ciclo de 58,44 e 49,74% para o sêmen a fresco diluído ou diluído e resfriado a 5°C por até 12 horas, respectivamente. Uma dose inseminante menor, de 10 mL e contendo 200×10^6 espermatozóides móveis, foi utilizada por Vidament et al. (2009) para a inseminação de éguas com sêmen asinino diluído em leite e resfriado a 4°C por até 8 horas, resultando em uma taxa de concepção por ciclo de 45%. Ao comparar-se apenas os resultados envolvendo o sêmen resfriado, observa-se que os obtidos no presente experimento, são similares aos obtidos por

Rossi (2008) e Vidament et al. (2009), mesmo considerando-se um tempo de armazenamento mais longo, de aproximadamente 18 horas, no presente experimento.

Em relação ao volume da dose inseminante, desde que contenham um número mínimo recomendado de espermatozóides, taxas de concepção aceitáveis têm sido atingidas após a inseminação de éguas com volumes de sêmen entre 0,6 mL (Allen et al. 1976) a 120mL (Bedford e Hinrichs, 1994). Entretanto, foi demonstrado que taxas de diluição entre 25 e 50×10^6 espermatozóides/mL de sêmen diluído foram mais adequadas para a preservação do sêmen equino por até 24 horas (Varner et al. 1987). No presente experimento, ao fixar-se o volume da dose inseminante em 22 mL, considerando-se uma concentração espermática média, no ejaculado fracionado, de $931,67 \times 10^6$ espermatozóides/mL e um volume de sêmen por dose inseminante de 0,67 e 1,34 (Tabela 24), para os tratamentos 400 ou 800×10^6 espermatozóides, obteve-se uma concentração espermática final de 28,37 e 56,75 milhões de espermatozóides/mL nas doses inseminantes contendo 400 e 800×10^6 espermatozóides móveis, pré-resfriamento. Assim, observa-se que apenas o tratamento 400 atendeu à concentração espermática/mL de sêmen diluído preconizada por Varner et al. (1987) para o sêmen equino, enquanto a concentração obtida para o tratamento 800 extrapolou o limite máximo de 50×10^6 espermatozóides/mL de sêmen diluído. Entretanto, esta maior concentração espermática não interferiu com a fertilidade obtida com este tratamento, que não diferiu da observada para o tratamento 400 (Tabela 27).

Em estudo conduzido por Beker (1997), avaliou-se o efeito de diferentes concentrações espermáticas por mL de sêmen diluído (25, 50 ou 100×10^6 spz/mL) sobre as características físicas da fração rica do sêmen asinino, diluída em diluidor a base de gema de ovo e resfriada à 5°C. Quando se comparou a motilidade total pós-diluição e pós-resfriamento observou-se superioridade para as menores concentrações (25 e 50×10^6

sptz/mL). Entretanto, nos dias 2, 3 e 4 pós-coleta, a motilidade total foi maior nas concentrações espermáticas de 50 e 100 x 10⁶ sptz/mL. A partir do quinto dia de armazenamento, a concentração espermática não interferiu sobre a motilidade total. Para a variável vigor espermático houve tendência de superioridade nas concentrações envolvendo 50 e 100 x 10⁶ sptz/mL, nos dias 1, 2, 4 e 5 pós-coleta. Assim, com base nestes resultados, concentrações mais altas que as preconizadas por Varner et al. (1987) são capazes de manter boa viabilidade espermática *in vitro*, e taxas de concepção adequadas como as obtidas no presente experimento, para o tratamento 800 x 10⁶ espermatozóides/ dose inseminante.

Ainda neste sentido, Jasko et al. (1992b) observaram uma tendência (p=0,17) envolvendo a redução da recuperação embrionária de éguas inseminadas com um volume de 50 mL, contendo 5 milhões de espermatozóides móveis/mL, em relação ao que observou-se em éguas inseminadas com volumes de 10 mL contendo 25 x 10⁶ espermatozóides móveis /mL. No entanto, não houve diferenças nas taxas de recuperação embrionária entre éguas inseminadas com volume de 50 mL contendo 25 x 10⁶ espermatozóides móveis /mL ou inseminadas com volumes de 10 mL contendo 25 x 10⁶ espermatozóides móveis /mL. Estes resultados enfatizam a maior importância da concentração espermática por mL do sêmen diluído nas doses inseminantes, em detrimento do volume ou da taxa de diluição (sêmen: diluidor), quando o número de espermatozóides móveis por dose inseminante for o mesmo.

No presente experimento, observou-se que o aumento da dose inseminante não resultou em incremento da taxa de concepção de éguas inseminadas com sêmen asinino diluído e resfriado. Ressalta-se que a taxa de diluição mínima utilizada não foi baixa o suficiente para reduzir a motilidade espermática. Além disso, deve-se salientar que o tratamento 400, continha um número mínimo de espermatozóides móveis (280 x 10⁶)

necessários para se obter uma fertilidade adequada. Resultados similares aos do presente experimento, foram obtidos, na espécie equina, quando doses inseminantes contendo 400 ou 800 x 10⁶ espermatozóides resultaram em taxas de concepção por ciclo similares, para o sêmen diluído e resfriado (Palhares, 1997).

Assim, os resultados obtidos no presente experimento, reafirmam os apresentados pela literatura disponível, de que doses inseminantes contendo entre 400 e 800 x 10⁶ de espermatozóides móveis pré-resfriamento são capazes de manter taxas de gestação aceitáveis quando se utiliza o sêmen diluído e resfriado de asininos. Além disso, todos os trabalhos citados anteriormente envolvem a utilização do ejaculado total, cujas taxas de concepção foram similares às obtidas no presente experimento, utilizando-se apenas a fração rica do ejaculado, sugerindo não haver prejuízos deste procedimento na taxa de gestação das éguas inseminadas.

4.3.2.2. Efeito do jumento sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen asinino diluído, resfriado e estocado, em contêiner proposto por Palhares (1997), independentemente da dose inseminante utilizada

Observa-se na Tabela 28 que a taxa de gestação, bem como o número de ciclos por gestação não diferiram (p>0,05) entre os cinco jumentos utilizados no presente experimento. A fertilidade de um reprodutor pode ser influenciada por diversos fatores, dentre eles a intensidade de uso, o comportamento sexual, o momento e método de cobertura e, também pela fertilidade intrínseca às éguas.

Em relação à idade das éguas inseminadas, Hutton e Meacham (1968) observaram, para 659 éguas, que a fertilidade média oscilou até os 7 anos de idade, atingiu um pico de 89,6% aos 9 anos, manteve um platô acima de 70% até os 15 anos e declinou gradualmente após esta idade. Também Tannus e Thun (1995)

observaram redução da fertilidade em éguas com idade superior a 14 anos. No presente experimento, observou-se que a idade média das éguas inseminadas, uma variável capaz de influenciar a fertilidade, não diferiu entre os cinco jumentos.

Em relação ao volume de sêmen/ dose inseminante, por envolver as características físicas do sêmen, concentração espermática e motilidade, observou-se grande variação individual (Mann et al., 1963; Pickett et al., 1970; Rossi, 2008), entre os jumentos, uma vez que a dose inseminante foi fixada em 400 e 800 x 10⁶ espermatozoides móveis (Tabela 28). O mesmo observou-se para o volume de diluidor/ dose inseminante, uma vez ter sido o volume da dose inseminante fixado em 22 mL. Assim, para o jumento quatro, o qual necessitou de maior volume de sêmen/ dose inseminante, menor volume de diluidor foi necessário.

No que se refere aos parâmetros de controle, relativos ao tempo da coleta à pré-diluição, à

diluição final e ao resfriamento do sêmen, observou-se diferenças ($p < 0,05$) entre os jumentos que foram, entretanto, pequenas e casuais, resultantes da logística, muitas vezes complexa, durante o processamento do sêmen. Já em relação ao intervalo da coleta do sêmen à inseminação artificial, não foram observadas diferenças ($p > 0,05$) entre os indivíduos.

Para o sêmen asinino a fresco, diluído em diluidor a base de lactose-gema de ovo, Silva (1988) obteve taxas de concepção, ao primeiro ciclo, de 52,4%, 52,2% e 68,5%, durante três estações de monta consecutivas. Neste trabalho, não se encontrou a informação do número de reprodutores utilizados em cada estação de monta. Observa-se que a taxa de gestação/ciclo, obtida para jumento 1 (53,33%), no presente experimento, foi similar à obtida por Silva (1988) no primeiro ciclo das duas primeiras estações de monta relatadas pela autora.

Tabela 28. Parâmetros de controle e de resultados de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, considerando-se o efeito do jumento, independentemente da concentração espermática/dose inseminante.

Parâmetros Avaliados	Jumentos				
	1	2	3	4	5
Nº ciclos	30	10	13	11	15
Idade (anos)	11,30±0,64	9,70±1,11	9,42±0,97	10,09±1,06	9,23±0,90
Vol. sêmen/ dose (mL)	0,82±0,09 ^b	1,10±0,14 ^b	0,85±0,13 ^b	1,84±0,14 ^a	1,06±0,12 ^b
Vol. diluidor /dose (mL)	21,18±0,09 ^a	20,90±0,14 ^a	21,15±0,13 ^a	20,16±0,14 ^b	20,84±0,12 ^a
Coleta - pré (min.)	2,78±0,09 ^b	3,33±0,16 ^a	2,69±0,14 ^b	3,45±0,16 ^a	2,46±0,14 ^b
Coleta - diluição (min.)	14,45±0,53 ^b	13,62±0,90 ^b	16,52±0,86 ^{ab}	18,50±0,88 ^a	14,50±0,78 ^b
Coleta-resfriamento (min.)	18,02±0,51 ^b	16,62±0,85 ^b	19,35±0,77 ^b	21,86±0,84 ^a	17,96±0,74 ^b
Coleta - IA (h)	18,55±0,21	18,77±0,35	18,23±0,32	18,06±0,34	18,45±0,31
Ciclos/concepção	1,88	2,50	2,60	2,20	3,00
Taxa de concepção (%)	53,33 (16/30)	40,00 (4/10)	38,46 (5/13)	45,45 (5/11)	33,33 (5/15)

^{a,b} Médias acompanhadas por letras diferentes na linha, diferem entre si ($p < 0,05$).

Utilizando apenas um jumento da raça Pêga como doador de sêmen, Leite (1994), obteve taxas de concepção/ciclo de 53,12%, 70% e 67,64% quando utilizou doses inseminantes

contendo 200, 400 ou 600 milhões de sptz/dose. Observa-se que a taxa de gestação/ciclo obtida, no presente experimento, para o jumento 1, foi similar à

obtida por Leite (1994) para a dose inseminante de 200 milhões de spz. Também utilizando sêmen asinino a fresco diluído, e uma dose inseminante de 250×10^6 espermatozóides, Díaz (2009), obteve uma taxa de concepção total de 53,84% após a inseminação de éguas.

Ressalta-se que, nos experimentos de Silva (1988), Leite (1994) e Díaz (2009), utilizou-se o sêmen a fresco diluído, enquanto, no presente experimento, foi utilizado o sêmen resfriado por aproximadamente 18 horas. Assim, observa-se que o protocolo de resfriamento adotado no presente experimento, não resultou em prejuízos à taxa de gestação de éguas inseminadas, principalmente quando se considera as taxas de gestação obtidas para o jumento 1. A fertilidade numericamente inferior, para os demais jumentos, não inviabiliza a utilização desta tecnologia uma vez que, ainda atingiram-se taxas de gestação aceitáveis.

No experimento conduzido por Ferreira (1993), avaliou-se o comportamento do sêmen de três jumentos da raça Pêga quando submetidos ao resfriamento, observando-se superioridade de um em relação ao demais. Entretanto, no teste de fertilidade, apenas o sêmen do reprodutor com maior resistência ao resfriamento foi utilizado para inseminação de éguas, quando se comparou a sua fertilidade após 24 ou 48 horas de armazenamento. Assim, obteve taxas de concepção por ciclo de 80% e 75,9%. No presente experimento, as taxas de gestação/ciclo variaram de 33,33% a 53,33%, sendo inferiores às obtidas por Ferreira (1993).

Rossi (2008) comparou a fertilidade do sêmen de quatro jumentos, submetidos ao resfriamento por até 12 horas, obtendo taxas de concepção por ciclo de 36,21%; 43,75%; 46,30% e 74,47%. Assim, observou superioridade do último jumento em relação aos demais. No presente experimento, não observou-se efeito do jumento sobre a taxa de gestação das éguas inseminadas, sendo que nenhum dos jumentos utilizados apresentou fertilidade equivalente à do último jumento

utilizado por Rossi (2008). Entretanto, foram similares às taxas de gestação obtidas com os demais reprodutores. Ressalta-se que o número de ciclos utilizados para cada jumento pode ter sido insuficiente para que variações individuais na fertilidade se manifestassem.

Também neste experimento, os efeitos do intervalo IA – ovulação, da idade da égua, do intervalo entre a coleta do sêmen e a última inseminação artificial, do número de inseminações por ciclo e da categoria reprodutiva sobre a fertilidade das éguas inseminadas foram avaliados. Entretanto, o número insuficiente de ciclos impediu uma interpretação confiável dos resultados que, no entanto, estão apresentados nos Anexos (Análises 762, 764, 766, 767 e 768, e 769, respectivamente).

5. CONCLUSÕES

5.1. Experimento I.

Em relação à fração rica do ejaculado, de jumentos da raça Pêga observou-se:

- a) Em 94,4% dos ejaculados coletados (17/18), os três primeiros jatos do ejaculado foram seguidos pela liberação de gel, sendo que em apenas 5,6% (1/18) dos ejaculados observou-se presença de gel no terceiro jato;
- b) A motilidade e o vigor espermáticos não diferiram ($p < 0,05$) entre os jatos coletados; entretanto, observou-se uma tendência de redução destes parâmetros do primeiro para o terceiro jato;
- c) Independentemente do jumento utilizado, os três jatos avaliados apresentaram concentrações espermáticas decrescentes.

5.2. Experimentos II e III.

Em relação à utilização do sêmen fracionado de jumentos da raça Pêga, diluído e armazenado a 5°C, observou-se:

- a) O diluidor de leite em pó-desnatado glicose (LPDG) foi superior ao diluidor de lactose-gema de ovo (LGO) quanto à manutenção da motilidade e vigor espermáticos do ejaculado asinino fracionado, sendo que, neste diluidor, uma motilidade aceitável foi mantida, independentemente do jumento, por até 48 horas de armazenamento;
- b) Para a inseminação de éguas com sêmen asinino fracionado e armazenado, em média, por 18 horas (14,10 a 23,32h), uma maior taxa de gestação/ciclo foi obtida com a utilização do diluidor LPDG, sendo que a associação entre coleta fracionada e o diluidor LGO respondeu por resultados de fertilidade comercialmente inaceitáveis;
- c) A motilidade e o vigor espermáticos durante o armazenamento do sêmen fracionado de jumentos à 5°C por até 48 horas, não foram influenciados pela concentração espermática por dose inseminante, 400 ou 800 x 10⁶ espermatozóides;
- d) A motilidade espermática foi superior à 40% e o vigor espermático superior à 2,97 até as 48 horas de armazenamento, independentemente do jumento e da concentração espermática por dose inseminante, para o ejaculado fracionado diluído em LPDG;
- e) Para o sêmen fracionado, diluído em LPDG, e armazenado por aproximadamente 18 horas, a fertilidade foi similar (p>0,05) para éguas inseminadas com doses inseminantes contendo 400 ou 800 x 10⁶ espermatozóides;
- f) A motilidade e o vigor espermáticos diferiram (p<0,05) entre os jumentos utilizados, entretanto, a fertilidade foi similar (p>0,05) entre eles, em ambos os experimentos;
- g) Uma sobrevivência espermática de até 60 horas foi observada para o sêmen asinino fracionado, diluído em diluidor de LPDG, e armazenado a 5°C. Quando armazenado por um período médio de 18 horas (14,10 a 23,32h), foi possível a realização de inseminações às segundas, quartas e sextas-feiras, sem prejuízo à taxa de gestação das éguas inseminadas;
- h) O contêiner proposto por Palhares (1997) mostrou-se prático e eficiente quanto à manutenção das características espermáticas por até 24 horas, resultando na obtenção de índices adequados de fertilidade;
- i) Com relação ao diluidor LGO, a presença de uma alta porcentagem de gema de ovo em sua formulação quando associada à coleta fracionada do sêmen resultou em taxa de gestação inaceitável. Pretende-se que o colesterol, presente na gema de ovo, na ausência ou redução das proteínas do plasma seminal, tenha interferido na capacitação espermática e, assim, respondido pela baixa taxa de gestação obtida com este tratamento;
- j) A coleta fracionada, o diluidor LPDG e o manejo reprodutivo empregado neste trabalho podem ser indicados para procedimentos de rotina nas propriedades destinadas à produção de muare, respeitando-se a individualidade dos reprodutores, com índices de fertilidade universalmente aceitos como adequados.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUILAR, J.J.; LOSINNO, L.; KONCURAT, M. et al. Nuclear, cytoplasmic and mitochondrial patterns of ovulated oocytes in young and aged mares. *Theriogenology*, v.58, n.2-4, p.689-692, 2002.
- AIRES, V.A.; HINSCH, K.D.; MUELLER-SCHLOESSER, F. et al. In vitro and in vivo comparison of egg-yolk-based and soybean lecithin-based extenders for cryopreservation of bovine semen. *Theriogenology*, v.60, n.2, p.269-279, 2003.
- AKCAY, E.; REILAS, T.; ANDERSSON, M. et al. Effect of seminal plasma fractions on stallion sperm survival after cooled storage. *J. Vet. Med.*, v. 53, p.481-485, 2006.
- ALGHAMDI, A.S.; FOSTER, D.N.; TROEDSSON, M.H.T. Equine seminal plasma reduces sperm binding to polymorphonuclear neutrophils (PMNs) and improves the fertility of fresh semen inseminated into inflamed uteri. *Reproduction*, v.127, p.593-600, 2004.
- ALLEN, W.R.; BOWEN, J.M.; FRANK, C.J. et al. The current position of AI in horse breeding. *Equine Vet. J.*, v.8, p.72-74, 1976.
- ALLEN, W.R. The development and application of the modern reproductive technologies to horse breeding. *Reprod. Dom. Anim.*, v.40, p.310-325, 2005.
- ALMQUIST, J.O.; FLIPSE, R.J.; THACKER, D.L. Diluters for bovine semen. IV. Fertility of bovine spermatozoa in heated homogenized milk and skim milk. *J. Anim. Sci.*, v.13, p.1303-1307, 1954.
- ALMQUIST, J.O.; WICKERSHAM, E.W. Diluents for bovine semen. XII. Fertility and motility of spermatozoa in skim-milk with various levels of glycerol and methods of glycerolization. *J. Dairy Sci.*, v.45, n.6, p.782-787, 1962.
- ALOIA, R.C.; CURTIN, C.C.; GORDON, L.M. *Lipid domains and the relationship to membrane function*. New York: Alan R. Liss, Inc. 1988, 301p.
- ALUMOT, E.; SCHINDLER, H. Transaminases in the epididymal fluid of the ram. *J. Reprod. Fertil.*, v.10, p. 261-262, 1965.
- ALVARENGA, M.O.; PAPA, F.O.; LANDIM-ALVARENGA, F.C. et al. Amides as cryoprotectants for freezing stallion semen: A review. *Anim. Reprod. Sci.*, v.89, n.1-4, p.105-113, 2005.
- ÁLVAREZ, A.L.; SERRES, C.; CRESPO, F. et al. Cryopreservation of Zamorano-Leónés donkey semen using different amides. *Reprod. Dom. Anim.*, v.39, n.4, p.267, 2004. (Abstract).
- ÁLVAREZ, A.L.; SERRES, C.; TORRES, P. et al. Effect of cholesterol-loaded cyclodextrin on the cryopreservation of donkey spermatozoa. *Anim. Reprod. Sci.*, v.94, p. 89-91, 2006.
- AMANN, R.P. Can the fertility potential of a seminal sample be predicted accurately? *J. Andrology*, v.10, p. 89-98, 1989.
- AMANN, R.P.; CRISTANELLI, M.S.; SQUIRES, E.L. Proteins in stallion seminal plasma. *J. Reprod. Fertil.*, Suppl.35, p.105-112, 1987.
- AMANN, R.P.; GRAHAM, J.R. Spermatozoal function. In: MCKINNON, A.O.; VOSS, J.L. (Ed.) *Equine Reproduction*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. p. 715-745.
- AMANN, R.F.; HAMMERSTEDT, R.H.; VEERAMACHANEM, D.N.R. The epididymis and sperm maturation - a perspective. *Reprod. Fertil. Develop.*, v.5, p.361-381, 1993.
- AMANN, R.P.; PICKETT, B.W. Principle of cryopreservation and a review of cryopreservation of stallion spermatozoa. *J. Equine Vet. Sci.*, v.7, n.3, p. 145-173, 1987.
- ANDRADE, L.S. Endocrinologia: o funcionamento hormonal na égua e no garanhão. In: ____ *Fisiologia e manejo da reprodução equina*. 2.ed. Recife: s.n., 1986. p.43-84.
- ANDREWS, F.N.; MCKENZIE. Estrus, ovulation, and related phenomena in the mare. *Missouri Agric. Exper. Sta. Bull.*, v.329, p.1-114, 1941.

- ARMITAGE, W.J. Osmotic stress as a factor in detrimental effect of glycerol on human platelets. *Cryobiology*, v. 23, n.2, p. 116-125, 1986.
- ARNS, M.J.; WEBB, G.W.; KREIDER, J.L. et al. Use of different nonglycosable sugars to maintain stallion sperm viability when frozen or stored at 37°C and 5°C in a bovine serum albumin medium. *J. Reprod. Fertil.*, Suppl.35, p.135-141, 1987.
- ARRUDA, R.P.; VIEIRA, R.C.; MANZANO, A. et al. Inseminação artificial de equídeos com sêmen congelado em palhetas de 0,5ml. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 20., 1986. *Anais...* Cuiabá: Universidade Federal do Mato Grosso, 1986. p.181.
- ATGER, V.M.; MOYA, M.L.; STOUT, G.W. et al. Cyclodextrins as catalysts for the removal of cholesterol from macrophage foam cells. *J. Clin. Invest.*, v. 99, n. 4, p. 773-780, 1997.
- AURICH, J.E.; KÜHNE, A.; HOPPE, H. et al. Seminal plasma affects membrane integrity and motility of equine spermatozoa after cryopreservation. *Theriogenology*, v.46, p. 791-797, 1996.
- AURICH, C. Recent advances in cooled-semen technology. *Anim. Reprod. Sci.*, v.107, n.3-4, p.268-275, 2008.
- AURICH, C.; SEEGER, P.; MUELLER-SCHLOESSER, F. Comparison of four extenders with defined protein composition for storage of stallion spermatozoa at 5°C. *Reprod. Domest. Anim.* v.42, p.445-448, 2007.
- BAAS, J.W.; MOLAN, P.C.; SHANNON, P. Factors in seminal plasma of bulls that affect the viability and motility of spermatozoa. *J. Reprod. Fertil.*, v. 68, p. 275-280, 1983.
- BALL, B.A.; GRAVANCE, C.G.; WESSEL, M.T. et al. 2003. Activity of angiotensin-converting enzyme (ACE) in reproductive tissues of the stallion and effects of angiotensin II on sperm motility. *Theriogenology*, v.59, n.3-4, p. 901-914, 2003.
- BALL, B.A.; LITTLE, T.V.; HILLMAN, R.B. et al. Pregnancy rates at days 2 and 14 and estimated pregnancy loss rates prior day 14 in normal and subfertile mares. *Theriogenology*, v.26, p.611-619, 1986.
- BALL, B.A., LITTLE, T.V., WEBER, J.A. et al. Survival of day-4 embryos from young, normal mares and aged, subfertile mares after transfer to normal recipient mares. *J. Reprod. Fertil.*, v.85, p. 187-194, 1989.
- BALL, B. A.; MEDINA, V.; GRAVANCE, C. G. et al. Effect of antioxidants on preservation of motility, viability and acrosomal integrity of equine spermatozoa during storage at 5°C. *Theriogenology*, v. 56, n.4, p. 577-589, 2001.
- BALL, B.A. Reduced reproductive efficiency in the aged mare: role of early embryonic loss. In: BALL, B.A. (Ed). *Recent advances in Equine Theriogenology*. Publisher: International Veterinary Information Service. 2000. Disponível em: www.ivis.org. Acesso em 20 de outubro de 2009.
- BALL, B.A.; WOODS, G.L. Embryonic loss and early pregnancy loss in the mare. *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.*, v.9, p. 459-470, 1987.
- BARBACCINI, S.; GULDEN, P.; MARCHI, V. et al. Incidence of embryo loss in mares inseminated before or after ovulation. *Equine Vet. Educ.*, v. 11, p.252-254, 1999b.
- BARBACCINI, S.; SAVAGLIA, G.; GULDEN, P. et al. Retrospective study on the efficacy of hCG in an equine artificial insemination programme using frozen semen. *Equine Vet. Educ.*, v.2, p. 404-410, 2000.
- BARRETO, M.A.P. *Efeitos das proteínas do plasma seminal equino com massa superior a 10 kda sobre a congelabilidade do sêmen, reação inflamatória uterina e fertilidade*. 2007. 78f. Tese (Doutorado em Produção Animal) - Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense. Campos dos Goytacazes, RJ.
- BARRIER-BATTUT, I.; BONNET, C.; GIRAUDO, A. et al. Removal of seminal plasma by centrifugation, before cooled storage, enhances membrane stability of stallion

- spermatozoa. *Anim. Reprod. Sci.*, v.121, n.1-2, Suppl.1, p.188-190, 2010.
- BATELLIER, F.; MAGISTRINI, M.; FAUQUANT, J. et al. Effect of milk fractions on survival of equine spermatozoa. *Theriogenology*, v.48, n.3, p.391–417, 1997.
- BATELLIER, F.; DUCHAMP, G.; VIDAMENT, M. et al. Delayed insemination is successful with a new extender for storing fresh equine semen at 15°C under aerobic conditions. *Theriogenology*, v.50, n.2, p. 229-236, 1998.
- BATELLIER, F.; VIDAMENT, M.; FAUQUANT, J. et al. Advances in cooled semen technology. *Anim. Reprod. Sci.*, v.68, n.3-4, p.181-190, 2001.
- BATISTA, V.L. *Comportamiento sexual y normalización de las características seminales del burro Catalán*. 2003. 74f. Tesis de Master. Instituto Agronomico Mediterrâneo de Zaragoza. Zaragoza, Spain.
- BECK, E. Einführung der kuunstlicheen Besamung in der Maultierzucht Marokkos. *Tierarztl Umsch*, v.37, p. 21–24, 1982.
- BEDFORD, S.J.; HINRICHS, K. The effect of insemination volume on pregnancy rates of pony mares. *Theriogenology*, v.42, n.4, p.571-578, 1994.
- BEDFORD, S.J.; JASKO, D.J.; GRAHAM, J.K. et al. Effect of seminal extenders containing egg yolk and glycerol on motion characteristics and fertility of stallion spermatozoa. *Theriogenology*, v.43, n.5, p.955-967, 1995.
- BEKER, A.R.C.L. *Efeitos de diferentes concentrações espermáticas e de antibióticos sobre a longevidade do sêmen asinino (Equus asinus), resfriado a 5°C*. 1997. 91f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, MG.
- BELL, R.J.; BRISTOL, F. Fertility and pregnancy loss after delay of foal oestrus with progesterone and oestradiol-17β. *J. Reprod. Fertil.*, Suppl. 35, p. 667–668, 1987.
- BELLING JR., T.H. Postovulation breeding and related reproductive phenomena in the mare. *Equine Pract.*, v.6, n.6, p.12-19, 1984.
- BEREZOWSKI, C.J.; STITCH, K.L.; WENDT, K.M. et al. Clinical comparison of 3 products available to hasten ovulation in cyclic mares. *J. Equine Vet. Sci.*, v.24, n.6, p. 231-233, 2004.
- BERGERON, A.; MANJUNATH, P. New insights towards understanding the mechanisms of sperm protection by egg yolk and milk. *Mol. Reprod. Develop.*, v.73, n.10, p.1338–1344, 2006.
- BERGERON, A.; CRÊTE, M.H.; BRINDLE, Y. et al. Low density lipoprotein fraction from hen's egg yolk decreases the binding of the major proteins of bovine seminal plasma to sperm and prevents lipid efflux from the sperm membrane. *Biol. Reprod.*, v. 70, p.708–717, 2004.
- BERGERON, A.; VILLEMURE, M.; LAZURE, C. et al. Isolation and characterization of the major proteins of ram seminal plasma. *Mol. Reprod. Dev.*, v. 71, p.461–470, 2005.
- BERLINER, V.R. Dilutors for stallions and jack semen. *J. Anim. Sci.*, v.1, n.4, p.314-319, 1942.
- BERLINER, V.R.; COWART, F.E.; PHARIS, L.L. Cold storage colts. *J. Hered.*, v.3, p.449-451, 1940.
- BERLINER, V.R.; SHEETS, E.W.; MEANS, R.H. et al. Oestrus cycle of jennets and sperm production of jacks. *J. Anim. Sci.*, v.1, p.295-298, 1938.
- BIELANSKI, W. The evaluation of stallion semen in aspects of fertility control and its use for artificial insemination. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON EQUINE REPRODUCTION, 1., 1974. Cambridge. *Proc...* Cambridge: 1975. p.19-24.
- BITTMAR, A.; KOSINIAK, K. The role of selected biochemical components of equine seminal plasma in determining suitability for deep-freezing. *Arch. Vet. Pol.*, v.32, p.17–29, 1992.

- BLANCHARD, T.L.; THOMPSON, J.A.; BRINSKO, S. P. et al. Mating mares on foal heat: a five-year retrospective study. *Amer. Assoc. Equine Pract. Proceedings*, v. 50, 2004. Disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/AAEP/2004/Blanchard/chapter.asp?LA=1>. Acesso em: 20 de março de 2010.
- BLANCHARD, T.L.; VARNER, D.D.; LOVE, C.C. et al. Use of a semen extender containing antibiotic to improve the fertility of a stallion with seminal vesiculitis due to *Pseudomonas aeruginosa*. *Theriogenology*, v.28, n.4, p. 541–546, 1987.
- BOETA, M.; QUINTERO, L.Z. Utilización de la leche descremada ultrapasteurizada como diluyente de semen refrigerado de burro, destinado a la inseminación de yeguas. *Vet. Méx.*, v.31, n.1, p.67-69, 2000.
- BOGART, R.; MAYER, D.T. The effect of egg yolk on the various physical and chemical factors detrimental to spermatozoa viability. *J. Anim. Sci.*, v.9, n.2, p.143-152, 1950.
- BRANDÃO, F.Z. *Efeito da concentração espermática e do intervalo entre as duas últimas inseminações sobre a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen a fresco diluído*. 2001. 94f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.
- BRANDON, C.I.; HEUSSNER, G.L.; CAUDLE, A.B. et al. Two – dimensional polyacrylamide electrophoresis of equine seminal plasma proteins and their correlation with fertility. *Theriogenology*, v.52, n.5, p. 863-873, 1999.
- BRAUN, J.; TORRES-BOGGINO, F.; HOCHI, S. et al. Effect of seminal plasma on motion characteristics of epididymal and ejaculated stallion spermatozoa during storage at 5°C. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.*, v.101, p.319–322, 1994.
- BRINSKO, S.P.; BALL, B.A.; MILLER, P.G. et al. In vitro development of day 2 embryos obtained from young, fertile mares, and aged, subfertile mares. *J. Reprod. Fert.*, v. 102, p.371-378, 1994.
- BRINSKO, S.P.; CROCKETT, E.C.; SQUIRES, E.L. Effect of centrifugation and partial removal of seminal plasma on equine spermatozoa motility after cooling and storage. *Theriogenology*, v.54, n.1, p.129-136, 2000.
- BRINSKO, S. P.; LOVE, C. C.; BAUER, J. E. et al. Cholesterol and phospholipid analysis in sperm of stallions with unexplained subfertility. *Amer. Assoc. Equine Pract. Proceedings*, v. 51, 2005. Disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/aaep/2005/brinsko/chapter.asp?LA=1>. Acesso em: 21/04/2011.
- BRINSKO, S.P.; VARNER, D.D. Artificial insemination. In: MCKINNON, A.O.; VOSS, J.L. (Eds). *Equine Reproduction*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. p.790-796.
- BRISTOL, F. Breeding behavior of a stallion at a pasture with 20 mares in synchronized oestrous. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON EQUINE REPRODUCTION, 3, 1982. Sidney. *Proc...* Sydney: 1982. p.71-77.
- BURNS, S.J.; SIMPSON, R.B.; SNELL, J.R. Control of microflora in stallion semen with a semen extender. *J. Reprod. Fert.*, Suppl. 23, p. 139–142, 1975.
- BURWASH, J.; PICKETT, B.W.; VOSS, J.L. et al. Relationship of duration of estrus to pregnant rate in normally cycling, nonlactating mares. *J. Anim. Vet. Med. Ass.*, v.165, n.8, p.714-716, 1974.
- CALVETE, J.J.; MANN, K.H.; SCHÄFER, W. et al. Amino acid sequence of HSP-1, a major protein of stallion seminal plasma: effect of glycosylation on its heparin- and gelatin-binding capabilities. *Biochemistry*, v.310, p.615-622, 1995a.
- CALVETE, J.J.; NESSAU, S.; MANN, K. et al. Isolation and biochemical characterization of stallion seminal plasma proteins. *Reprod. Domest. Anim.*, v.29, p.411-426, 1994.
- CAMILLO, F.; MARMORINI, P.; ROMAGNOLI, S. et al. Fertility at the first post partum estrous compared with fertility at the

following estrous cycles in foaling mares and with fertility in nonfoaling mares. *J. Equine Vet. Sci.*, v.17, n.11, p. 612-615, 1997.

CANISSO, I.F. *Comportamento sexual, parâmetros seminais e fertilidade do sêmen congelado de jumentos (Equus asinus) da raça Pêga*. 2008. 211f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, MG.

CANISSO, I.F.; CARVALHO, G.R.; DAVIES MOREL, M.C.G. et al. Sexual behavior and ejaculate characteristics in Pêga donkeys (*Equus asinus*) mounting estrous horse mares (*Equus caballus*). *Theriogenology*, v.73, n.1, p.56–63, 2010.

CARDULLO, R.A.; WOLF, D.E. The sperm plasma membrane: A little more than mosaic, a little less than fluid. In: BLOODGOOD, R.A. (Ed). *Ciliary and flagellar membranes*. New York: Plenum Press, 1990, p.305-336.

CARNEVALE, E.M.; GINTHER, O.J. Defective oocytes as a cause of subfertility in old mares. *Biol. Reprod. Mono.*, v.1, p. 209-214, 1995.

CARNEVALE, E.M., GRIFFIN, P.G., GINTHER, O.J. Age-associated fertility before entry of embryos into the uterus in mares. *Equine Vet. J.*, Suppl. 15, p.31-35, 1993.

CARNEVALE, E.M. The mare model for follicular maturation and reproductive aging in the woman. *Theriogenology*, v.69, p. 23-30, 2008.

CARVALHO, G.R. *Fertilidade do sêmen eqüino diluído, resfriado a 20°C e transportado*. 1994. 58f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, MG.

CARVER, D.A.; BALL, B.A. Lipase activity in stallion seminal plasma and effect of lipase on stallion spermatozoa during storage at 5°C. *Theriogenology*, v.58, n.8, p.1587-1595, 2002.

CASLICK, E.A. The vulva and the vulvo-vaginal orifice and its relation to the genital health of the thoroughbred mare. *Cornell Vet.*, v.27, n.2, p.178-187, 1937.

CASTEJÓN, F.C. *Estudio de la congelación del semen e inseminación artificial en el asno zamorano-leonés*. 2005. 173f. Tese (Doctor em Veterinaria). Facultad de Veterinaria - Universidad Complutense de Madrid.

CHALHOUB, M.; CARVALHO, G.; SILVA FILHO, J.M. et al. Fertilidade de éguas inseminadas com sêmen eqüino diluído, resfriado a 20°C e transportado a diferentes momentos da ovulação. *Arq. Esc. Med. Vet. Univ. Fed. Bahia*, v.18, n.1, p. 79-88, 1996.

CHAMPION, Z.J.; VICKERS, M.H.; GRAVANCE, C.G. et al. Growth hormone and insulin – like growth factor I extends the longevity of equine spermatozoa in vitro. *Theriogenology*, v.57, n.7, p.1793-1800, 2002.

CHANG, M.C. Fertilization capacity of spermatozoa deposited in the fallopian tubes. *Nature*, v. 168, n. 4277, p. 997-998, 1951.

CHENG, P.L. The application of some investigations of reproductive physiology in horse breeding practice in China. *Anim. Breed. Abstr.*, v.33, n.1, p.58, 1964 (Abstract).

CHENIER, T. S. Anatomy and physical examination of the stallion. In: SAMPER, J.C. (Ed.), *Equine breeding management and artificial insemination*. 2.ed. Missouri: Saunders Elsevier, 2009. p.1-74.

CHOONG, C.H.; WALES, R.G. The effect of cold shock on spermatozoa. *Aust. J. Biol. Sci.*, v.15, p.543–551, 1962.

CLAY, C.M. *Effects of dilution, centrifugation and macromolecules on motility of stallion spermatozoa*. 1987. Tesis (Master of Science). Colorado State University.

COCHRAN, J.D.; AMANN, R.P.; FROMAN, D.P. et al. Effects of centrifugation, glycerol level, cooling to 5°C, freezing rate and thawing rate on the post-thaw motility of equine sperm. *Theriogenology*, v.22, n.1, p.25-38, 1984.

COMBES, G. B.; VARNER, D. D.; SCHROEDER, F. et al. Effect of cholesterol on the motility and plasma membrane integrity of frozen equine spermatozoa after thawing. *J. Reprod. Fertil.*, Suppl.56, p. 127-132, 2000.

- CONTRI, A.; DE AMICIS, I.; VERONESI, M.C. et al. Efficiency of different extenders on cooled semen collected during long and short day length seasons in Martina Franca donkey. *Anim. Reprod. Sci.*, v.120, n.1-4, p.136-141, 2010.
- CONTRI, A.; TOSI, U.; DE AMICIS, I. et al. Ultrasonographic evaluation of sexual glands before and after ejaculation in the jackass. *Vet. Res. Commun.*, v. 32, Suppl. 1, p.135 – 137, 2008. (Abstract).
- COSTA, A.J.S.A.; VALE FILHO, V. R.; SOUTO, N.B. et al. Avaliação andrológica de jumentos (*Equus asinus*) da raça Pêga, em três regiões, duas em Minas Gerais e uma na Bahia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 9., 1991, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1991. p.449.
- COTTORELLO, A.C.P.; AMANCIO, R.C.; HENRY, M. et al. Effect of storage temperature and extenders on “in vitro” activity of donkey spermatozoa. *Theriogenology*, v.58, n.2-4, p. 325-328, 2002.
- CRESPO, F.; ÁLVAREZ, A.L.; BENITO, D. et al. Caracterización de los parámetros seminales en el asno Zamorano-Leonés. In: CONGRESO IBÉRICO DE REPRODUCCIÓN ANIMAL, 4., 2003, Araucas. *Proc...* Araucas: 2003. p.84.
- CRISTANELLI, M.J.; AMANN, R.P.; SQUIRES, E.L. et al. Effects of egg yolk and glycerol levels in lactose- EDTA- egg yolk extender and of freezing rate on the motility of frozen –thawed stallion spermatozoa. *Theriogenology*, v.24, n.6, p.681-686, 1985.
- CURRY, M.R. Cryopreservation of semen from domestic livestock. *Rev. Reprod.*, v. 5, p.46-52, 2000.
- DALMAU, C. S. *Evaluación y conservación del semen en el asno Zamorano-Leonés*. 2003. 190f. Tese (Doutorado). Facultad de Veterinaria - Universidad Complutense de Madrid. Madrid, Espanha.
- DANTAS, M.S. *Influência de dois sistemas de cobertura após a ovulação, sobre a fertilidade de éguas, reabsorção embrionária e sexo dos produtos*. 1995. 59f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, MG.
- DARIN-BENNETT, A.; WHITE, I.G. Influence of the cholesterol content of mammalian spermatozoa on susceptibility to cold-shock. *Cryobiology*, v.14, n.4, p.466-470, 1977.
- DAVIS, B. K. Inhibition of fertilizing capacity in mammalian spermatozoa by natural and synthetic vesicles. *Symposium on the pharmacological effects of lipids*. AOCS Monograph, n.5, p. 145-157, 1978.
- DAVIS, B. K. Interaction of lipids with the plasma membrane of sperm cells. I. The antifertilization action of cholesterol. *Arch. of Androl.*, v.5, n.3, p. 249-254, 1980.
- DAVIES-MOREL, M.C.G. *Equine Artificial Insemination*. Wallingford-Oxon: CAB International. 1999. 406p.
- DAY, F.T. Survival of spermatozoa in the genital tract of the mare. *J. Agric. Sci.*, v.32, n.1, p.108-111, 1942.
- DE LAMIRANDE, E.; JIANG, H.; ZINI, A. et al. Reactive oxygen species and sperm physiology. *Rev. Reprod.*, v.2, p.48-54, 1997.
- DEMICK, D.S.; VOSS, J.L.; PICKETT, B.W. Effect of cooling, storage, glycerolization and spermatozoa numbers on equine fertility. *J. Anim. Sci.*, v.43, p.633-637, 1976.
- DE VRIES, J.P. Evaluation of the use fresh, extended, transported semen in the Netherlands. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON EQUINE REPRODUCTION, 4, 1986. *Proc....* Calgary: 1987. p.33.
- DIAS, A.J.; MAIA, M.S.; RETAMAL, C.A. et al. Identification and partial characterization of alpha-1,4-glucosidase activity in equine epididymal fluid. *Theriogenology*, v.61, n.7-8, p.1545-1558, 2004.
- DÍAZ, N.; DUVERGER, O.; DENIS, R. et al. Resultados preliminares sobre fertilidad en yeguas inseminadas con semen fresco de burros

para la obtención de mulus (*Equus mulus*). *Cien. Tecnol. Ganadera*, v.3, n.2, p.65-67, 2009.

DOUGLAS-HAMILTON, D.H.; BURNS, P.J.; DRISCOLL, D.D. et al. Fertility and characteristics of slow-cooled stallion semen. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON EQUINE REPRODUCTION, 4, 1986. Calgary. *Proc...* Calgary: 1987, p.649-660.

DOUGLAS-HAMILTON, D.H.; OSOL, R.; OSOL, G. et al. A Field study of the fertility of transported equine semen. *Theriogenology*, v.22, n.3, p.291-304, 1984.

DOWSETT, K.F.; OSBORNE, H.G.; PATTIE, W.A. Morphological characteristics of stallion's spermatozoa. *Theriogenology*, v.22, n.5, p.463-472, 1984.

DROBNIS, E.Z.; CROWE, L.M.; BERGER, T. et al. Cold shock damage is due to lipid phase transitions in cell membrane: A demonstration using sperm as a model. *J. Exp. Zool.*, v.265, p.432-437, 1993.

DROBNIS, E.Z.; OVERSTREET, J.W. Natural history of spermatozoa in the female reproductive tract. *Oxf. Rev. Reprod. Biol.*, v.14, p. 1-45, 1992.

ELIASSEN, R. Origin of transaminase in human semen. *J. Reprod. Fertil.*, v.11, p. 281-282, 1966.

ELLERMAN, D.A.; DAROS, V.G.; COHEN, D.J. et al. Expression and structure-function analysis of the sperm cysteine-rich secretory protein that mediates gamete fusion. *Biol. Reprod.*, v.67, p.1225-1231, 2002.

EL WISHY, A.B. Morphology of epididymal spermatozoa in the ass (*Equus asinus*) and stallion (*Equus caballus*). *Zeitschrift-fur-Tierzucht-und-Zuchtungsbiologie*, v.92, n.1-2, p.67-72, 1975.

FAHY, GM. The relevance of cryoprotectant "toxicity" to cryobiology. *Cryobiology*, v.23, n.1, p.1-13, 1986.

FELÍCIO, G.B. *Efeito da substituição da gema de ovo pela lecitina de soja na criopreservação*

do sêmen equino. 2008. 44f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista. Botucatu, SP.

FERREIRA, M.F.L. *Efeito de diluentes e taxa de resfriamento sobre a motilidade espermática e fertilidade do sêmen de jumentos (Equus asinus)*. 1993. 67f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, MG.

FERREIRA, M.F.L.; JONES, D.N.; HENRY, M. et al. Efeito da centrifugação e de diluentes sobre a preservação do sêmen resfriado de jumentos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 9, 1991, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1991, p.452.

FIALA, S.M.; PIMENTEL, C.A.; STEIGER, K. et al. Effect of skim milk and seminal plasma uterine infusions in mares. *Theriogenology*, v.58, n.2-4, p. 491-494, 2002.

FLESCHE, F.M.; GADELLA, B.M. Dynamics of the mammalian sperm plasma membrane in the process of fertilization. *Biochim. Biophys. Acta. - Reviews on Biomembranes*, v.1469, n.3, p.197-235, 2000.

FLOWERS, W. L. Semen evaluation, extension, packaging and transport methods. In: ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF SWINE PRACTITIONERS, 27., 1996, Nashville. *Proc...* Nashville: American Association of Swine Practitioners, 1996. p. 469-479.

FOOTE, R.H.; BROCKETT, C.C.; KAPROTH, M.T. Motility and fertility of bull sperm in whole milk extender containing antioxidants. *Anim. Reprod. Sci.*, v.71, n.1-2, p.13-23, 2002.

FORESTA, C.; ROSSATO, M.; DI VIRGILIO, F. Ion fluxes through the progesterone-activated channel of the sperm plasma membrane. *Biochem. J.*, v. 294, p. 279-283, 1993.

FOULKES, J.A.; SWEASEY, D.; GOODEY, R.G. Fertility of bull spermatozoa in egg-yolk diluents of varied lipid fatty acid composition. *J. Reprod. Fertil.*, v.60, p.165-169, 1980.

- FOULKES, J.A. The separation of lipoproteins from egg yolk and their effect on the motility and integrity of bovine spermatozoa. *J. Reprod. Fertil.*, v.49, n.2, p.277-284, 1977.
- FRANCL, A.T.; AMANN, R.P.; SQUIRES, E.L. et al. Motility and fertility of equine spermatozoa in a milk extender after 12 or 24 hours at 20°C. *Theriogenology*, v.27, n.3, p.517-525, 1987.
- FRASER, L.R.; ADEOYA-OSIGUWA, S.; BAXENDALE, R.W. et al. First messenger regulation of mammalian sperm function via adenylylcyclase/cAMP. *J. Reprod. Dev.*, v.51, p.37-46, 2005.
- GADELLA, B.M.; RATHI, R.; BROUWERS, J.F.H.M. et al. Capacitation and the acrosome reaction in equine sperm. *Anim. Reprod. Sci.*, v.68, n.3-4, p.249-265, 2001.
- GASTAL, M.M.F.O. *Estudo das características seminais e do comportamento sexual de jumentos*. 1991, 105f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.
- GASTAL, M.O.; BECKER, A.R.C.L.; HENRY, M. et al. Efeito da sazão nas características seminais de jumentos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 9, 1991, Belo Horizonte, MG. *Anais...* Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1991, p.451.
- GASTAL, M. O.; HENRY, M.; BEKER, A. R. et al. Effect of ejaculation frequency and season on donkey jack semen. *Theriogenology*, v. 47, n.3, p.627-638, 1997.
- GIBBS, P.G.; DAVISON, K.E. A field study on reproductive efficiency of mares maintained predominately on native pasture. *J. Equine Vet. Sci.*, v.12, n.4, p. 219-222, 1992.
- GINTHER, O.J.; GARCIA, M.C.; BERGFELT, D.R. et al. Embryonic loss in mares: pregnancy rate, length of interovulatory intervals, and progesterone concentrations associated with loss during days 11 to 15. *Theriogenology*, v.24, n.4, p.409-417, 1985.
- GINTHER, O.J. *Reproductive Biology of the Mare: basic and applied aspects*. Cross Plains WI, Equiservices, 1992. 478p.
- GOKCEN, H.; TUMEN, H.; DOGAN, I. et al. Semen characters in stallions and donkeys. Veteriner- Fakultesi-Dergisi,-Uludag-Universitesi. v.12, n.1, p. 65-72, 1993. (medline)
- GRAHAM, J.K. Cryopreservation of stallion spermatozoa. *Reprod. Tech.*, v.12, p. 131-147, 1996.
- GRAHAM, J.K.; FOOTE, R.H. Effect of several lipids, fatty acyl chain length, and degree of unsaturation on the motility of bull spermatozoa after cold shock and freezing. *Cryobiology*, v.24, n.1, p.42-52, 1987.
- GUAY, P.; VAILLANCOURT, D.; ZIDANE, N. et al. Preservation of stallion semen. *Anim. Breed. Abstr.*, v.57, n.12, abstr. 7679, 1989. (Abstract).
- GWATHMEY, T.; IGNOTZ, G.; SUAREZ, S. PDC-109 (BSP-A1/A2) promotes bull sperm binding to oviductal epithelium in vitro and may be involved in forming the oviductal sperm reservoir. *Biol. Reprod.*, v.69, p.809-815, 2003.
- GYGAX, A.P.; GANJAM, V.K.; KENNEY, R.M. Clinical, microbiological and histological changes associated with uterine involution in the mare. *J. Reprod. Fertil.*, Suppl.27, p.571-578, 1979.
- HAAG, F.M. Evaluation of "dismount" semen in thoroughbred horse breeding. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, v.1, p.312-314, 1959.
- HAMMERSTEDT, R.H.; GRAHAM, J.K. Cryopreservation of poultry sperm: The enigma of glycerol. *Cryobiology*, v.29, n.1 p.26-38, 1992.
- HAMMERSTEDT, R.H.; GRAHAM, J.K.; NOLAN, J.P. Cryopreservation of mammalian sperm: what we ask them to survive. *J. Androl.*, v.11, n.1, p.73-88, 1990.
- HAMMES, A.M.; PIMENTEL, C.A.; FERNANDES, C.E. Fertilidade em garanhões

avaliada através do exame andrológico. *Ciência Rural*, v.26, n.2, p. 277-283, 1996.

HEISKANEN, M.L.; PIRHONEN, A.; KOSKINEN, E. et al. Motility and ATP content of extended equine spermatozoa in different storage conditions. *J. Reprod. Fertil.*, Suppl.35, p.103-107, 1987.

HEISKANEN, M.L.; HUHTINEN, M.; PIRHONEN, A. et al. Insemination results with slow-cooled stallion semen stored for 70 or 80 hours. *Theriogenology*, v.42, n.6, p.1043-1051, 1994.

HEITLAND, A.V.; JASKO, D.J.; GRAHAM, J.K. et al. Motility and fertility of stallion spermatozoa cooled and frozen in a modified skim milk extender containing egg yolk and liposomes. *Biol. Reprod.*, v.1, p. 753-759, 1995.

HELLANDER, J.C.; SAMPER, J.C.; CRABO, B.G. Fertility of a stallion with low sperm motility and a height incidence of an unusual sperm tail defect. *Vet. Rec.*, v.128, p.449-451, 1991.

HEMBERG, E.; LUNDEHEIM, N.; EINARSSON, S. Reproductive performance of Thoroughbred mares in Sweden. *Reprod. Dom. Anim.*, v.39, p.81-85, 2004.

HENRIET, L.; HULHOVEN, D.; MAISON, J.H.; et al. Non-damaging technique for the preservation of living cells at low temperature. *Cryo Letters*, v.3, p.326, 1982.

HENRY, M.; OLIVEIRA, M.M.F.; DIAZ, A.P. et al. Comportamento de jumentos no período de cortejo e ato sexual. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 7, 1987, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1987, p.71.

HENRY, M.; SILVA, K.M.; SOUZA, M.C.N.; et al. Seminal parameters of donkeys: influence of the season. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.23, n.3, p.237-238, 1999.

HENRY, M.; SNOEK, P.P.N.; COTTORELLO, A.C.P. Pot-thaw spermatozoa plasma membrane integrity and motility of stallion semen frozen

with different cryoprotectants. *Theriogenology*, v.58, n. 2-4, p.245-248, 2002.

HENRY, M.R.J.M. *Some special aspects of the physiopathology of reproduction in mares*. 1981. 219f. Tese (Doutorado) – Ghent University, Bélgica.

HOUSEHOLDER, D.D.; PICKETT, B.W.; VOSS, J.L. et al. Effect of extender, number of Spermatozoa and HCG on equine fertility. *J. Equine Vet. Sci.*, v.1, n.1, p.9-13, 1981.

HOUSLAY, M.D.; STANEY, K.K. *Dynamics of bilayer membranes*. New York: John Wiley & Sons, 1982. 330p.

HUECK, C. *Untersuchungen zur Flüssigkonservierung von Pfdisperma unter Verwendung Verschiedener Kühl- und Transportsysteme – Laborstudie*. 1990. 89f. Tese (Doutorado) - Tierärztlichen Hochschule Hannover, Hannover.

HUGHES, J.O.; LOY, R.P. AI in the equine. *Cornell Vet.*, v.60, p.463-475, 1970.

HUHTINEN, M.; KOSKINEN, E.; SKIDMORE, J. A. et al. Recovery rate and quality of embryos from mares inseminated after ovulation. *Theriogenology*, v. 45, n.4, p.719-726, 1996.

HUNTER, R.H.F. Gamete lifespan in the mare's genital tract. Editorials. *Equine Vet. J.*, v.22, n.6, p.378- 379, 1990.

HURTGEN, J.P. Evaluation of the stallion for breeding soundness. *Vet. Clin. North Am.-Equine Pract.*, v.8, n.1, p.149-165, 1992.

HUTTON, C.A.; MEACHAM, T.N. Reproductive efficiency on fourteen horse farms. *J. Anim. Sci.*, v.27, p.434-438, 1968.

INAGAKI, M.; KIKUCHI, M.; ORINO, K. et al. Purification and quantification of lactoferrin in equine seminal plasma. *J. Vet. Med. Sci.*, v. 64, p.75-77, 2002.

JACOB, J. C. F.; ALBUQUERQUE, F. T.; DOMINGUES, M B. et al. Taxa de gestação em éguas Mangalarga Marchador inseminadas pós-

ovulação. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.24, n.1, p.51-55, 2000.

JAIN, M.K. *Introduction to biological membranes*. 2 ed. New York: John Wiley & Sons Inc. 1988. 423p.

JALKANEN, J.; HUHTANIEMI, I.;
POUTANEN, M. Mouse cysteine-rich secretory protein 4 (CRISP4): a member of the Crisp family exclusively expressed in the epididymis in an androgen-dependent manner. *Biol.Reprod.*, v.72, p.1268–1274, 2005.
JASKO, D.J.; BEDFORD, S.J.; COOK, N.L. et al. Effects of antibiotics on motion characteristics of cooled stallion spermatozoa. *Theriogenology*, v.40, n.5, p.885-893, 1993.

JASKO, D.J.; HATHAWAY, J.A.;
SACHALTENBRAND, V.I. Effect of seminal plasma and egg yolk on motion characteristics of cooled stallion spermatozoa. *Theriogenology*, v.37, n.6, p. 1241-1252, 1992a.

JASKO, D. J.; LEIN, D. H.; FOOTE, R. H. Determination of the relationship between sperm morphologic classifications and fertility in stallions: 66 cases (1987-1988). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.197, n. 3, p.389-394, 1990.

JASKO, D.J.; MARTIN, J.M.; SQUIRES, E.L. Effect of insemination volume and concentration of spermatozoa on embryo recovery in mares. *Theriogenology*, v.37, n.6, p 1233-1239, 1992b.

JASKO, D.J.; MORAN, D.M.; FARLIN, M.E. et al. Effect of seminal plasma dilution or removal on spermatozoal motion characteristics of cooled stallion semen. *Theriogenology*, v.35, n.6, p.1059-1067, 1991.

JEPSEN, R.J.; EVANS, L.E.; YOUNGS, C.R. Use of direct thaw insemination to establish pregnancies with frozen–thawed semen from a standard jack. *J. Equine Vet. Sci.*, v.30, n.11, p.651-656, 2010.

JORDÃO, L.P.; DE CAMARGO, M.X.;
GOUVEIA, P.F. Eficiência, na reprodução, das éguas mulateiras da coudelaria paulista. *Bol. Ind. Anim.*, v.14, p.49-62, 1954.

KAKAR, S.S.; GANGULI, N.C. Milk as an extender for semen: A review. *Indian J. Anim. Sci.*, v.48, p.777–790, 1978.

KAMHI, S.; VARADIN, M. Time of breeding and ovulation in relationship with conception rate in mares. *Anim. Breed. Abstr*, v.33, n.1, abstr. 63, 1965. (Abstract).

KANKOFER, M.; KOLM, G.; AURICH, J. et al. Activity of glutathione peroxidase, superoxide dismutase and catalase and lipid peroxidation intensity in stallion semen during storage at 5°C. *Theriogenology*, v.63, n.5, p.1354-1365, 2005.

KARESKOSKI, M.; KATILA T. Components of stallion seminal plasma and the effects of seminal plasma on sperm longevity. *Anim. Reprod. Sci.*, v.107, n.3-4, p. 249–256, 2008.

KARESKOSKI, A.M.; REILAS, T.;
ANDERSSON, M. et al. Motility and plasma membrane integrity of spermatozoa in fractionated stallion ejaculates after storage. *Reprod. Dom. Anim.*, v.41, n.1, p. 33-38, 2006.

KARESKOSKI, A.M.; REILAS, T.;
SANKARI, S. et al. Composition of fractionated stallion ejaculates. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 89, p. 228–230, 2005.

KATILA, T.; COMBES, G.B.; VARNER, D.D. et al. Comparison of three containers used for the transport of cooled stallion semen. *Theriogenology*, v.48, n.7, p. 1085-1092, 1997.

KATILA, T.; KOSKINEN, E.; KUNTSI, H. et al. Fertility after post ovulatory inseminations in mares. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION AND ARTIFICIAL INSEMINATION, 11, 1988, Dublin. *Proc...* Dublin: University College Dublin, 1988. v.2 (Abstract 96).

KATILA, T. Procedures for handling fresh stallion sperm. *Theriogenology*, v.48, n.7, p. 1217–1227, 1997.

KATILA, T.; REILAS, T.; GÜVENC, K. et al. The effect of seminal plasma on motility characteristics and viability of spermatozoa after cooled storage. In: MÜLLER, J.; WADE, J.F.

(Eds.). *Havemeyer Foundation Monograph Series*, v. 13, p. 3–5, 2004.

KAYSER, J.P.; AMANN, R.P.; SHIDELER, R.K. et al. Effects of linear cooling rate on motion characteristics of stallion spermatozoa. *Theriogenology*, v.38, n.4, p.601–614, 1992.

KEDROV, V.K. Insemination of mares after ovulation. *Anim. Breed. Abstr.*, v.13, p.131, 1945. (Abstract).

KEITH, S.L. *Evaluation of new cryoprotectants for the preservation of equine spermatozoa*. 1998. 104f. Thesis (Master of Science) - Colorado State University. Fort Collins, Colorado, USA.

KENNEY, R.M.; BERGMAN, R.V.; COOPER, W.L. et al. Minimal contamination techniques for breeding. Technique and preliminary findings. *Proc. Am. Assoc. Equine Pract.*, v.21, p.327-336, 1975.

KENNEY, R.M.; HURTGEN, J.P.; PIERSON, R. et al. *Society for theriogenology manual for clinical fertility evaluation of the stallion*. Hastings: Society for Theriogenology, 1983. 100p.

KILLIAN, G.J.; CHAPMAN, D.A.; ROGOWSKI, L.A. Fertility-associated proteins in Holstein bull seminal plasma. *Biol. Reprod.*, v.49, p.1202–1207, 1993.

KLEIN, U.; GIMPL, G.; FAHRENHOLZ, F. Alteration of the myometrial plasma membrane cholesterol content with β -cyclodextrin modulates the binding affinity of the oxytocin receptor. *Biochemistry*, v. 34, p. 13784-13793, 1995.

KLOPPE, L.H.; VARNER, D.D.; ELMORE, R.G. et al. Effect of insemination timing on the fertilizing capacity of frozen/thawed equine spermatozoa. *Theriogenology*, v.29, n.2, p.429-439, 1988.

KOSINIAK, K. Characteristics of the successive jets of ejaculated semen of stallions. *J. Reprod. Fertil.*, Suppl.23, p.59-61, 1975.

KOSKINEN, E.; KARLSSON, M.; REILAS, T. et al. Catalase activity and total protein in

fractionated stallion seminal plasma. *Theriogenology*, v.58, n.2-4, p.337-440, 2002.

KOSKINEN, E.; LINDEBERG, H.; KUNTISI, H. et al. Fertility of mares after postovulatory insemination. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.37, p.77-80, 1990.

KOTILAINEN, T., HUHTINEN, M., KATILA, T. Sperm induced leukocytosis in the equine uterus. *Theriogenology*, v.41, n.3, p.629-636, 1994.

KREIDER, J.L.; TINDALL, W.C.; POTTER, G.D. Inclusion of bovine serum albumin in semen extenders to enhance maintenance of stallion sperm viability. *Theriogenology*, v.23, n.2, p.399-408, 1985.

KREUCHAUF, A. Reproductive physiology in the jackass. *Anim. Res. Develop.*, v.20, p.51-78, 1984.

KRAUSE, D.; GROVE, D. Deep freezing of jackass and stallion semen in concentrated pellet form. *J. Reprod. Fertil.*, v.14, p.139-141, 1967.

LAING, J.A. Observation on the survival of stored spermatozoa in the genital tract of the mare. *J. Agric. Sci.*, v. 33, n.2, p. 64-66, 1943.

LAMBERT, W. V.; MCKENZIE, F. F. *Artificial Insemination in Livestock Breeding*. Washington: United States Department of Agriculture, 1940. 67p. (Circular n.567 – Miscellaneous).

LANGKAMMER, S. *Fraktionierte und nichtfraktionierte Samengewinnung beim Hangst: Vergleichende Untersuchungen zur Haltbarkeit von Frischsperma. (Investigations on the keeping properties of fractionated and non-fractionated stallion semen)*. 1994. Thesis. Tierärztliche Hochschule Hannover, Germany.

LANGLAIS, J.; ROBERTS, K.D. A molecular membrane model of sperm capacitation and the acrosome reaction of mammalian spermatozoa. *Gamete Res.*, v.12, n.2, p.183–224, 1985.

LAUNAY, F. *Etude de la conservation de la semence de Baudet Du poitou*. 1990. 150f. Tese (Doutorado). École Nationale Vétérinaire de Nantes, France.

- LEBOEUF, B.; GUILLOUET, P.; BATELLIER, F. et al. Effect of native phosphocaseinate on the in vitro preservation of fresh semen. *Theriogenology*, v.60, n.5, p.867–877, 2003.
- LEITE, S. V. F. *Influência do número de espermatozoides de jumento (Equus asinus) sobre a taxa de prenhez em éguas (Equus caballus) inseminadas a fresco*. 1994. 52f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, MG.
- LEVIS, D.G. Hazard analysis of critical control points in an on-farm artificial insemination laboratory. In: GEORGE, A. YOUNG SWINE CONFERENCE AND ANNUAL NEBRASKA SPF SWINE CONFERENCE. 38, 1997, Lincoln. *Proc...*, Lincoln: 1997, p.58-74.
- LIMA, M.C.C. *Sêmen eqüino: efeito da diluição, resfriamento a 20° C e transporte sobre a fertilidade*. 1995.121f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, MG.
- LINDEBERG, H.; KARJALAINEN, H.; KOSKINEN, E. et al. Quality of stallion semen obtained by a new semen collection phantom (Equidame®) versus a Missouri® artificial vagina. *Theriogenology*, v.51, n.6, p.1157-1173, 1999.
- LOOMIS, P.R.; AMANN, R.P.; SQUIRES, E.L. et al. Fertility of unfrozen and frozen stallion spermatozoa extended in EDTA-lactose egg yolk and package in straws. *J. Anim. Sci.*, v.56, n.3, p.687-693, 1983.
- LOVE, C.C.; THOMPSON, J.A.; BRINSKO, S.P. et al. Effect of storage time and temperature on stallion sperm DNA and fertility. *Theriogenology*, v.57, n.3, p.1135-1142, 2002.
- LOVE, C.C.; BRINSKO, S.P.; RIGBY, S.L. et al. Relationship of seminal plasma level and extender type to sperm motility and DNA integrity. *Theriogenology*, v.63, n.6, p. 1584-1591. 2005.
- LOY, R.G. Characteristics of postpartum reproduction in mares. *Vet. Clin. North Am.-Large Anim. Pract.*, v.2, p. 345-349, 1980.
- MACDONALD, B.J.; FOULKES, J.A. A spectrofluorometric investigation, using 1-anilinonaphthalen-8-sulphonate, of the interaction between washed bovine spermatozoa and seminal plasma or egg-yolk lipoprotein. *J. Reprod. Fertil.*, v.63, p. 407–414, 1981.
- MAGISTRINI, M.; COUTY, I.; PALMER, E. Interactions between sperm packaging, gas environment, temperature and diluents on fresh stallion sperm survival. *Acta Vet. Scand.*, Suppl.88, p.97-110, 1992.
- MAGISTRINI, M.; LINDEBERG, H.; KOSKINEN, E. et al. Biophysical and ¹H magnetic resonance spectroscopy characteristics of fractionated stallion ejaculates. *J. Reprod. Fertil.*, Suppl.56, p.56, p.101-110, 2000.
- MALMGREN, L.; OP DEN KAMP, B.; WOCKENER, A. et al. Motility patterns of equine spermatozoa stored under different conditions. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION, 12. 1992, Haugue. *Proc...* Haugue:1992, p.1891-1893.
- MANJUNATH, P.; NAUC, V.; BERGERON, A., et al. Major proteins of bovine seminal plasma bind to the low-density lipoprotein fraction of hen's egg yolk. *Biol. Reprod.*, v.67, p.1250–1258, 2002.
- MANJUNATH, P.; THÉRIEN, I. Role of seminal plasma phospholipid-binding proteins in sperm membrane lipid modification that occurs during capacitation. *J. Reprod. Immunol.*, v.53, p.109–119, 2002.
- MANN, T. *The Biochemistry of semen and of the male reproductive tract*. London: Methuen and Co., 1964. 493p.
- MANN, T.; MINOTAKIS, C.S.; POLGE., C. Semen composition and metabolism in the stallion and jackass. *J. Reprod. Fertil.*, v.5, p.109-122, 1963.
- MARI, G.; BELLUZZI, S. Impiego degli ultrasuoni nell' esame dell' apparato

- riproduttivo maschile. *Ippologia*, v.4, p. 63– 69, 1992.
- MARSHBURN, P.B.; STOVALL, D.W.; HAMMOND, M.G. et al. Fertility rates in men with normal semen characteristics: Spermatozoal testing by induction of the acrosome reaction and Wright-Giemsa staining for subtle abnormal forms. *Int. J. Gynecol. Obstet.*, v.37, n.3, p.233, 1992. (Abstract).
- MARTÍNEZ, E.A.; VÁZQUEZ, J.M.; ROCA, J. et al. An update on reproductive technologies with potencial short-term application in pig reproduction. *Reprod. Dom. Anim.*, v. 40, p.300-309, 2005.
- MARTIN, I.C.A. Diluents for the preservation of ram spermatozoa. I. Diluents used at 37°C and 5°C containing casein. *Aust. J. Biol. Sci.*, v.19, p.645–653, 1966.
- MARTIN, J.C.; KLUG, E.; GÜNZEL, A.R. Centrifugation of stallion semen and its storage in large volume straws. *J. Reprod. Fertil.*, Suppl. 27, p.47-51, 1979.
- MARTINUS, R.D.; MOLAN, P.C.; SHANNON, P. Deleterious effect of seminal plasma in the cryopreservation of bovine spermatozoa. *N. Z. J. Agric. Res.*, v.34, n.3, p.281–285, 1991.
- MATTOS, R.C.; SCHMITT, F.L.; OBERST, E.R. et al. Influência do plasma seminal de garanhões de baixa e alta qualidade espermática na motilidade, integridade e funcionalidade de membrana plasmática de espermatozóides resfriados a +4°C. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.27, n.3, p.336-338, 2003.
- MAXWELL, W.M.C.; JOHNSON, L.A. Physiology of spermatozoa at high dilution rates: the influence of seminal plasma. *Theriogenology*, v.52, n.8, p.1353-1362, 1999.
- MAZUR, P. D, Fundamental aspects of the freezing of cells with emphasis on mammalian ova and embryos. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION AND ARTIFICIAL INSEMINATION, 9., 1980. Madri. *Proc...* Madri: 1980. v.1, p.99-114.
- MCDOWELL, K.J.; POWELL, D.G.; BAKER, C.B. Effect of book size and age of mare and stallion on foaling rates in thoroughbred horses. *J. Equine Vet. Sci.*, v.12, n.6, p.364-367, 1992.
- MCKINNON, A.O.; SQUIRES, E.L.; HARRISON, B.S.; et al. Ultrasonographic studies on the reproductive tract of mares after parturition: Effect of involution and uterine fluid on pregnancy rates in mares with normal and delayed first postpartum ovulatory cycles. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.192, n.3, p.350-353, 1988.
- MCLEOD, J.; MACGEE, W.R. The semen of the thoroughbred. *Cornell Vet.*, v.40, p.233-248, 1950.
- MEIRELLES, L.S.; MALSCHITSKY, E.; NEVES, A.P. et al. Leite em pó desnatado não inativado e leite desnatado UHT para preservação e fertilidade do sêmen eqüino resfriado. *Ciência Rural*, v.28, p.467-470, 1998.
- MELLO, S.L.V. *Efeito da coleta fracionada de sêmen e de dois diluentes sobre a longevidade de espermatozóides de jumentos (Equus asinus) resfriados a 5°C*. 97f. 1998. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária da UFMG, Belo Horizonte, MG.
- MELLO, S.L.V.; HENRY, M.; SOUZA, M.C. et al. Effect of split ejaculation and seminal extenders on longevity of donkey semen preserved at 5°C. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.52, n.4, p.372-378, 2000.
- MERKT, H. Exame andrológico e problemas de cobertura no garanhão. Esquema para o exame andrológico. In: ENCONTRO NACIONAL DE EQUÍDEOCULTURA, 4, 1986, São Paulo. *Anais.....* São Paulo: Sociedade Brasileira de Hipologia, 1986. p.33–34.
- MIHAILOV, N.N. Milk as a diluent for the semen of animals. *Anim. Breed. Abstr.*, v.18, n.1, p.43, 1950. (Abstract).
- MILLER, D.J.; WINER, M.A.; AX, R.L. Heparin-binding proteins from seminal plasma bind to bovine spermatozoa and modulate capacitation by heparin. *Biol. Reprod.*, v.42, p.899–915, 1990.

- MILOVANOV, V.K.; LIHÁLEU, A.N.; ZEVAROVA, T.A. *Anim. Breed. Abstr.*, v.8, n.2, p.110, 1940. (Abstract).
- MIRÓ, J.; LOBO, V.; QUINTERO-MORENO, A. et al. Sperm motility patterns and metabolism in Catalanian donkey semen. *Theriogenology*, v.63, n.6, p.1706-1716, 2005.
- MIRÓ, J.; MEDRANO, A.; LOBO, V. et al. Primeros resultados para la congelación de semen en el garañón Catalán. In: CONGRESO IBÉRICO DE REPRODUCCIÓN ANIMAL, 4., 2003, Araucas. *Proc...* Araucas: 2003, p.87.
- MIRÓ, J.; TABERNER, E.; RIVERA, M. et al. Effects of dilution and centrifugation on the survival of spermatozoa and the structure of motile sperm cell subpopulations in refrigerated Catalanian donkey semen. *Theriogenology*, v.72, n.8, p.1017-1022, 2009.
- MITCHELL, D.; ALLEN, W.R. Observations on reproductive performance in the yearling mares. *J. Reprod. Fertil.*, Suppl.23, p.531-536, 1975.
- MOORE, A.I.; SQUIRES, E.L.; GRAHAM, J.K. Adding cholesterol to the stallion sperm plasma membrane improves cryosurvival. *Cryobiology*, v.51, n.3, p.241-249, 2005a.
- MOORE, A.I.; SQUIRES, E.L.; GRAHAM, J.K. Effect of seminal plasma on the cryopreservation of equine spermatozoa. *Theriogenology*, v.63, n.9, p.2372-2381, 2005b.
- MORAIS, R. N.; MUCCIOLO, R. G.; VIANA, W. G. Biologia reprodutiva de jumentos. II. Características físicas e morfológicas do sêmen. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v.31, n.1, p.49-57, 1994a.
- MORAIS, R. N.; MUCCIOLO, R. G.; VIANA, W. G. Biologia reprodutiva de jumentos. III. pH, osmolaridade e níveis de eletrólitos no sêmen. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v.31, n.2, p. 145-151, 1994b.
- MORAN, D.M.; JASKO, D.J.; SQUIRES, E.L. et al. Determination of temperature and cool rate induced cold shock in stallion spermatozoa. *Theriogenology*, v.38, n.6, p.999-1012, 1992.
- MORRIS, L.H.; ALLEN, E.R. Reproductive efficiency of intensively managed Thoroughbred mares in Newmarket. *Equine Vet. J.*, v. 34, n.1, p.51-60, 2002.
- MOURA, A.; KOC, H.; CHAPMAN, D. et al. Identification of proteins in the accessory sex gland fluid associated with fertility indexes of dairy bulls: A proteomic approach. *J. Androl.*, v.27, p.201-211, 2006.
- MOUSSA, M.; MARTINET, V.; TRIMECHE, A. et al. Low density lipoprotein extracted from hen egg yolk by an easy method: cryoprotective effect on frozen-thawed bull semen. *Theriogenology*, v. 57, n.6, p.1695-1706, 2002.
- MÜLLER, A. *Einflüsse verschiedener Verdünnermedien auf Motilität und Kopfkappenintegrität von flüssig Konserviertem Hundesperma*. 1992. 66f. Tese (Doctor Medicinae Veterinarie) – Klinik für Andrologia und Besamung der Haustiere der Tierärztlichen Hochschule Hannover. Hannover, Germany.
- MÜLLER, P.; ERLEMANN, K.R.; MÜLLER, K. et al. Biophysical characterization of the interaction of bovine seminal plasma protein PDC-109 with phospholipid vesicles. *Eur. Biophys. J.*, v.27, p.33-41, 1998.
- MUNGAN, N.A.; MUNGAN, G.; BASAR, M.M. et al. Effect of seminal plasma calcitonin levels on sperm mobility. *Arch. Androl.*, v.47, p.113-117, 2001.
- NAGASE, H.; GRAHAM, E.F. Pellet semen: comparison of different extenders and processes on fertility of bovine spermatozoa. In: INTERNATIONAL CONGRESS ANIMAL REPRODUCTION AND ARTIFICIAL INSEMINATION, 5, Trento, 1964. *Proc...* Trento: 1964. p. 387-391.
- NISHIKAWA, Y. Studies on preservation of raw and frozen semen. *J. Reprod. Fertil.*, Suppl. 23, p.99-104, 1975.
- NISHIKAWA, Y. *Studies on reproduction in horses*. Tokyo: Japan Racing Association, 1959, 340p.

- NISHIKAWA, Y.; SUGIE, T. Studies on the resistance of horse spermatozoa. II. Resistance to temperature. *Anim. Breed. Abst.*, v.19, n.1, abstr.50, 1951. (Abstract).
- NUNES, R. O jumento Pêga. In: SIMPÓSIO MINEIRO DE EQUIDOCULTURA, 1., 2007. Viçosa. *Anais...* Viçosa: Departamento de Zootecnia – Universidade Federal de Viçosa, 2007. p.33-39.
- OCES, N.C.; OSTROWSKI, J.B.E.; BALOCCO, S.M. Produccion de mulares por inseminacion artificial: II-examen microscopico, procesamiento y uso de semen refrigerado de asno. *Vet. Arg.*, v.1, n.3, p.236-244, 1984.
- OHKI, S.; DOYLE, D.; FLANAGAN, T.D. et al (Eds). *Molecular mechanisms of membrane fusion*. New York: Plenum Press. 1988. 588p.
- OLIVEIRA, F.R.A.P.; LEÃO, J.F.S.; AUGUSTO, C. et al. Incidência da perda precoce da prenhez em éguas da raça Mangalarga. *Bol. Indust. Anim.*, v.43, n.2, 349-358, 1986.
- OLIVEIRA, J.V. *Estudo de metodologias para a criopreservação de sêmen de jumento (Equus asinus) por meio de testes laboratoriais e fertilidade*. 110f. 2005. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”. Botucatu, SP.
- O’SHEA, T.; WALES, R.G. Effect of casein, lecithin, glycerol, and storage at 5°C on diluted ram and bull semen. *Aust. J. Biol. Sci.*, v.19, p.871– 882, 1966.
- PADILLA, A.W.; FOOTE, R.H. Extender and centrifugation effects on the motility patterns of slow-cooled stallion spermatozoa. *J. Anim. Sci.*, v. 69, p.3308–3313, 1991.
- PACE, M.M.; SULLIVAN, J.J. Effect of timing of insemination, numbers of spermatozoa and extender components on the pregnancy rate in mares inseminated with frozen stallion semen. *J. Reprod. Fertil.*, Suppl.23, p.115- 121, 1975.
- PALHARES, M.S. *Adequação de um novo container para o transporte do sêmen equino diluído e resfriado: I. Características termodinâmicas e funcionais; II. Desempenho reprodutivo das éguas inseminadas*. 1997. 246f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, MG.
- PALHARES, M.S. *Avaliação da atividade ovariana e eficiência reprodutiva de potras e éguas da raça Mangalarga Marchador*. 1989. 89f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.
- PALHARES, M. S. Fertilidade e controle. *Cavalo Marchador*, v.1, p.9-10, 1987.
- PALHARES, M.S. Inseminação artificial em equinos incluindo o transporte de sêmen. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 5, 1988. Campinas. *Anais...* Campinas: Fundação Cargill, 1988. p.228-250.
- PALHARES, M. S.; SILVA FILHO, J. M.; OLIVEIRA Jr., E. F. et al. Inseminação artificial em jumentas da raça Pega com cio induzido pelo Dinoprost. *Rev. Brasil. Reprod. Anim.*, v. 10, p. 157-163, 1986.
- PALMER, E. Factors affecting stallion sperm survival and fertility. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION AND ARTIFICIAL INSEMINATION, 10, 1984, Urbana. *Proc...* Urbana: University of Illinois, 1984, v.3, abstr. 377.
- PALMER, E.; FAUQUENOT, A. Mesure et prediction de la fertilité des étalons: étude méthodologiques. In: JARRIGE, R.; MARTIM-ROSSET, W (Eds). *Le cheval: reproduction selection, alimentation, exploitation*. Paris: INRA, 1984, p.113-127.
- PALM, F.; WALTER, I.; BUDIK, S. et al. Influence of different semen extenders and seminal plasma on PMN migration and on expression of IL-1 β , IL-6, TNF- α and COX-2 mRNA in the equine endometrium. *Theriogenology*, v.70, n. 5, p.843-851, 2008.

- PAL, Y.; LEGHA, R.A.; TANDON, S.N. Comparative assessment of seminal characteristics of horse and donkey stallions. *Indian J. Anim. Sci.*, v. 79, n.10, p.1028-1029, 2009.
- PAPA, F.O.; MEIRA, C.; SIMON, J.J. et al. Pregnancies in mare using donkey (*Equus asinus*) frozen semen. *Arq. Fac. Vet. UFRGS*, v.27, n.1, p.262, 1999.
- PARKS, J.E.; EHRENWALD, E. *Cholesterol efflux from mammalian sperm and its potential role in capacitation*. In: BAVISTER, B.; CUMMINS, J.; ROLDAN, E. (Eds). *Fertilization in mammals*. Norwell, Mass: Serono Symposia, 1990. p.155-168.
- PARKS, J.E.; GRAHAM, J.K. Effects of cryopreservation procedures on sperm membranes. *Theriogenology*, v.38, n.2, p.209-222, 1992.
- PARKS, J. E.; MEACHAM, T. N.; SAACHE, R. G. Cholesterol and phospholipids of bovine spermatozoa. II. Effect of liposomes prepared from egg phosphatidylcholine and cholesterol on sperm cholesterol, phospholipids and viability at 4°C and 37°C. *Biol. Reprod.*, v.24, n.2, p. 399-404, 1981.
- PARRISH, J. J.; SUSKO-PARRISH, J.L.; FIRST, N.L. Capacitation of bovine sperm by heparin: inhibitory effect of glucose and role of intracellular pH. *Biol. Reprod.*, v.41, p.683-699, 1989.
- PASCOE, R.R. Observations on the length and angle of declination of the vulva and its relation to fertility in the mare. *J. Reprod. Fertil.*, Suppl.27, p.299-305, 1979.
- PELLICER-RUBIO, M.; COMBARNOUS, Y. Deterioration of goat spermatozoa in skimmed milk-based extenders as a result of oleic acid released by the bulbourethral lipase BUSgp60. *J. Reprod. Fertil.*, v.112, p.95-105, 1998.
- PESCH, S.; BERGMANN, M.; BOSTEDT, H. Determination of some enzymes and macro- and microelements in stallion seminal plasma and their correlations to semen quality. *Theriogenology*, v.66, n.2, p.307-313, 2006.
- PHILLIPS, P.; LARDY, A.L. A yolk-buffer pabulum for the preservation of bull semen. *J. Dairy Sci.*, v.23, n.5, p.399-404, 1940.
- PICKETT, B.W.; AMANN, R.P. Extension and storage of stallion spermatozoa: a review. *J. Equine Vet. Sci.*, v.7, n.5, p.289-302, 1987.
- PICKETT, B.W. Collection and evaluation of stallion semen for artificial insemination. In: MCKINNON, A.O.; VOSS, J.L (Eds). *Equine Reproduction*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993a. P.746-754.
- PICKETT, B.W. Seminal extenders and cooled semen. In: MCKINNON, A.O.; VOSS, J.L (Eds). *Equine Reproduction*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993b. P. 746-754.
- PICKETT, B.W.; FAULKNER, L.C.; SUTHERLAND, T.M. Effect of month and stallion on seminal characteristics and sexual behavior. *J. Anim. Sci.*, v.31, p. 713-728, 1970.
- PICKETT, B.W.; KOMARECK, R.J. Effect of cold shock and freezing on loss of lipid from spermatozoa. *J. Dairy Sci.*, v.50, n.5, p. 753-757, 1966.
- PICKETT, B.W. Retrospective and review. *Biol. Reprod. Monogr.*, v.1, p. 547-564, 1995.
- PICKETT, B.W., SQUIRES, E.L., AMANN, R.P. et al. *Procedures for collection, evaluation and utilization of stallion semen for artificial insemination*. Fort Collins: Colorado State University, 1987, 125p. (Bulletin 3, Anim. Reprod. Laboratory).
- PICKETT, B.W.; SULLIVAN, J.J.; BYERS, W.W. et al. Effect of centrifugation and seminal plasma on motility and fertility of stallion and bull spermatozoa. *Fertil. Steril.*, v. 26, p. 167-74, 1975.
- PICKETT, B.W.; VOSS, J.L. Reproductive Management of the stallion. *Proc. Am. Assoc. Equine Pract.*, v.18, p.501-531, 1973.
- PICKETT, B.W.; VOSS, J.L. The effect of semen extenders and sperm number on mare fertility. *J.Reprod. Fertil.*, Suppl.23, p.95-98, 1975.

- PICKETT, B.W.; VOSS, L.J.; SQUIRES, E.L. Fertility evaluation of the stallion. *Comp. Cont. Educ. Pract.*, v.5, p.194-202, 1983.
- PIMENTEL, C.A. Aspectos da patologia espermática e a fertilidade no garanhão. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 8., 1989. Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: CBRA, 1989. p.127-132.
- PITHA, J.; IRIE, T.; SKLAR, P.B. et al. Drug solubilizers to aid pharmacologists: Amorphous cyclodextrin derivatives. *Life Sci.*, v.43, n.6, p.493-502, 1988.
- POTTS, R.J.; NOTARIANNI, L.J.; JEFFERIES, T.M. Seminal plasma reduces exogenous oxidative damage to human sperm, determined by the measurement of DNA strand breaks and lipid peroxidation. *Mutation Res.*, v.447, p.249-256, 2000.
- PRICE, S.; AURICH, J.; DAVIES-MOREL, M. et al. Effects of oxygen exposure and gentamicin on stallion semen stored at 5 and 15°C. *Reprod. Domest. Anim.*, v. 43, n.3, p.261-266, 2008.
- PROVINCE, C.A.; SQUIRES, E.L.; PICKETT, B.W. et al. Cooling rates, storage temperature and fertility of extended equine spermatozoa. *Theriogenology*, v.23, n.6, p.925-934, 1985.
- PRUITT, J.A.; KREIDER, J.L.; POTTER, G.D. et al. Fertility of stallion spermatozoa isolated on albumin gradients. *J. Equine Vet. Sci.*, v.8, n.2, p.153-155, 1988.
- PURDY, P.H.; GRAHAM, E.F. Effect of cholesterol-loaded cyclodextrin on the cryosurvival of bull sperm. *Cryobiology*, v.48, n.1, p.36-45, 2004.
- PYCOCK, J.F. How to maximize the chances of breeding successfully from the older maiden mare. *Proc. Am. Assoc. Equine Pract.*, v.52, p.245-249, 2006.
- QUINN, P.J.; CHOW, P.Y.W.; WHITE, J.G. Evidence that phospholipid protects ram spermatozoa from cold shock at a plasma membrane site. *J. Reprod. Fertil.*, v.60, n.3, p. 403-407, 1980.
- QUINN, P.J. Principles of membrane stability and phase behavior under extreme conditions. *J. Bioenerg. Biomemb.*, v.21, p.3-19, 1989.
- RAIJMAKERS, M.T.M.; ROELOFS, H.M.J.; STEEGERS, E.A.P. et al. Glutathione and glutathione S-transferases A1-1 and P1-1 in seminal plasma may play a role in protecting against oxidative damage to spermatozoa. *Fertil. Steril.*, v.79, n.1, p.169-172, 2003.
- RAMBAGS, B. *Embryonic quality and survival in the horse maternal and intrinsic aspects*. 2007. 127p. Tese (Doutorado). Utrecht University, Faculty of Veterinary Medicine, Netherlands.
- RAMBAGS, B. P. B.; VAN BOXTEL, D. C. J.; THARASANIT, T. et al. Oocyte mitochondrial degeneration during reproductive ageing in the mare. In: INTERNATIONAL EQUINE GAMETE GROUP. 18., 2005, Kühlungsborn, Germany. *Proc...* Kühlungsborn: 2005. p.25-27.
- RAPHAEL, C.F. *Efeitos da centrifugação nas características de movimento, integridade e peroxidação lipídica das membranas do espermatozoide equino refrigerado*. 2007. 112f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade de São Paulo. São Paulo, SP.
- RATHI, R.; COLENBRANDER, B.; STOUT, T.A.E. et al. Progesterone induces acrosome reaction in stallion spermatozoa via a protein tyrosine kinase dependent pathway. *Mol. Reprod. Develop.*, v.64, p.120-128, 2003.
- REINEKE, A.; HESS, O.; SCHAMBONY, A. et al. Sperm-associated seminal plasma proteins—a novel approach for the evaluation of sperm fertilizing ability of stallions? *Pferdeheilkunde*, v.6, p.531-537, 1999.
- REINERT, M.; CALVETE, J.J.; SANZ, L. et al. Immuno histochemical localization in the stallion genital tract and topography on spermatozoa of seminal plasma protein SSP-7, a member of the spermadhesin protein family. *Andrologia*, v.29, p.179-186, 1997.

- RETHINASWAMY, A.; YANG, C.-H.; SRIVASTAVA, P.N. Purification and characterization of β -glucuronidase from bull seminal plasma and its role in fertilization. *Mol. Reprod. Dev.*, v.38, 404–409, 1994.
- RIBEIRO FILHO, A.L. *Influência de um sistema de refrigeração e conservação sobre parâmetros espermáticos do sêmen equino*. 1996. 193f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, MG.
- RICKER, J.V.; LINFOR, J.J.; DELFINO, W.J. et al. Equine sperm membrane phase behavior: the effects of lipid-based cryoprotectants. *Biol. Reprod.*, v.74, p. 359–365, 2006.
- RIGBY, S.L.; BRINSKO, S.P.; COCHRAN, M. et al. Advances in cooled semen technologies: seminal plasma and semen extender. *Anim. Reprod. Sci.*, v.68, n.3-4, p.171-180, 2001.
- ROSSI, R. *Comparação de dois diluidores na fertilidade de éguas inseminadas com sêmen asinino a fresco ou resfriado*. 2008. 209f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.
- ROTA, A.; MAGELLI, C.; PANZANI, D. et al. Effect of extender, centrifugation and remove of seminal plasma on cooled-preserved Amiaata donkey spermatozoa. *Theriogenology*, v.69, n.2, p.176-185, 2008.
- ROUSSEL, J.D.; STALLCUP, O.T. Parallelism between semen characteristics and glutamic-oxalacetic transaminase, glutamic-pyruvic transaminase activities. *J. Dairy Sci.*, v. 48, n.12, p.1684-1687, 1965.
- ROUSSET, H.; CHANTELOUBE, P.; MAGISTRINI, M. et al. Assessment of fertility and semen evaluations of stallions. *J. Reprod. Fertil.*, Suppl.35, p.25-31, 1987.
- ROWLEY, H.S.; SQUIRES, E.L.; PICKETT, B.W. Effect of insemination volume on embryo recovery in mares. *J. Equine Vet. Sci.*, v.10, n.4, p.298- 300, 1990.
- ROZAS, A.L.A.G. *Actuaciones para la conservación del asno zamorano-leonés. Inseminación artificial con semen refrigerado y congelado*. 2005. 285f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária). Facultad de Veterinaria – Universidad Complutense de Madrid. Madrid, Espanha.
- SALISBURY, G.W.; BECK, G.H.; CUPPS, P.T. et al. The effect of dilution rate on the viability and fertility of bull spermatozoa used for artificial insemination. *J. Dairy Sci.*, v.26, n.7, p.1057-1068, 1943.
- SALTIEL, A.; GUTIERREZ, A.; DE BUEN-LLADO, N. et al. Cervical endometrial cytology and physiological aspects of postpartum mares. *J. Reprod. Fertil.*, Suppl.35, p.305-309, 1987.
- SALTZMAN, A.A. Insemination of mares after ovulation. *Anim. Breed. Abstr.*, v.8, n.1, p.16, 1940 (Abstract).
- SAMPER, J.C.; JENSEN, S.; SERGEANT, J. et al. Timing of induction of ovulation in mares treated with Ovuplant or Chorulon. *J. Equine Vet. Sci.*, v.22, n. 7, p.320-323, 2002.
- SAMPER, J.C.; HELLANDER, J.C.; CRABO, B.G. Relationship between the fertility of fresh and frozen semen and semen quality measured as sperm motility and with glass wool/sephadex filters. *J. Reprod. Fertil.*, Suppl. 44, p.107-114, 1991.
- SAMPER, J.C. Ultrasonographic appearance and the use of uterine edema to time ovulation in mares. *Proc. Amer. Assoc. Equine Pract.*, v.43, p.41-43, 1997.
- SANTOS, G.F. *Efeito do método e de taxas de resfriamento sobre características físicas e morfológicas dos espermatozoides de jumentos (Equus asinus) preservado a 5°C*. 1994.82f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.
- SAPORITI, A. *Uso de leche fluida descremada ultra pasteurizada como diluyente de semen refrigerado equino*. 2004. Colegio de Veterinarios de La provincia de Buenos Aires.

Disponível em: http://cvpba.org.ar/assets/pdf/pdf_st/34_lehe_fluida_.pdf.

Acesso em: 11 de maio de 2011.

SATURNINO, H.M.; SILVA FILHO, J.M.; SILVA, M.D. et al. Efeito do intervalo das duas últimas inseminações sobre a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen fresco diluído. *R. Bras. Zootec.*, v.31, n.3, p.1143-1149, 2002.

SCHAMBONY, A.; HESS, O.; GENTZEL, M. et al. Expression of CRISP proteins in the male equine genital tract. *J. Reprod. Fertil.*, Suppl.53, p.67-72, 1998.

SCHMITT, F.L.; JOBIM, M.I.M.; OBERST, E.R. et al. A concentração de plasma seminal e o diluente afetam as características espermáticas do sêmen equino resfriado. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.27, n.3, p.334-336, 2003.

SCOTT, M.A.; LIU, I.K.M.; OVERSTREET, J.W. Sperm transport to the oviducts: abnormalities and their clinical implications. *Proc. Am. Assoc. Equine Pract.*, v. 41, p.1-2, 1995.

SERRES, C.; RODRÍGUEZ, A.; ALVAREZ, A.L. et al. Effect of centrifugation and temperature on the motility and plasma membrane integrity of Zamorano-Leone's donkey semen. *Theriogenology*, v.58, n.2-4, p.329-332, 2002.

SERTICH, P.L.; HINRICHS, K.; KENNEY, R.M. Histological aspects of uterine involution in the post parturient, ovariectomized, embryo-recipient mare: a model for the study of involution. *Equine Vet. J.*, v. 26, Suppl. 8, p.55-58, 1989.

SERTICH, P.L.; WATSON, E.D. Plasma concentration of 13,14-dihidro-15 ketoprostaglandin F2 α in mares during uterine involution. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, v.201, n.3, p.434-437, 1992.

SIEME, H.; KATILA, T.; KLUG, E. Effect of semen collection practices on sperm characteristics before and after storage and on fertility of stallions. *Theriogenology*, v. 61, n.4, p. 769-784, 2004.

SIEME, H.; SCHAFER, T.; STOUT, T. A. E. et al. The effects of different insemination regimes on fertility in mares. *Theriogenology*, v.60, n.6, p. 1153-1164, 2003.

SILVA FILHO, J.M. *Aspectos do manejo reprodutivo e do sêmen na inseminação artificial de éguas*. 1994. 497f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

SILVA FILHO, J.M.; FONSECA, F.A.; PALHARES, M.S. et al. Fertilidade do sêmen equino transportado. II. Efeito de diluidores na fertilidade de éguas inseminadas com sêmen diluído, resfriado e transportado em contêiner especial. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 9, 1991. *Anais...* Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1987. p.98.

SILVA FILHO, J. M.; PALHARES, M.S.; BERGMANN, J.A.G. et al. Inseminação artificial em equinos incluindo transporte de sêmen. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 7, 1987. *Anais...* Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, p.98.

SILVA, M.I.F. Viabilidade do uso da inseminação artificial em eqüinos a nível industrial. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 7., 1987. *Anais...* Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1988. p.47-63.

SINGER, S.J.; NICHOLSON, G.L. The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science*, v.175, p.720-731, 1972.

SKATIN, P.N. Systems of mating and artificial insemination of horses. *Anim. Breed. Abstr.*, v.11, n.2, p.86, 1943 (Abstract).

SNOECK, P.P.N.; HENRY, M.; MELO, M.I.V. Efeito de diferentes diluidores sobre a viabilidade espermática pós-descongelação de sêmen equino. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.59, n.12, p. 56-64, 2007.

SQUIRES, E.L.; BARNES, C.K.; ROWLEY, H.S. et al. Effect of uterine fluid and volume of extender on fertility. *Proc. Am. Assoc. Equine Pract.*, v. 35, p. 25-30, 1989.

- SQUIRES, E.L.; PICKETT, B.W.; AMANN, R.P. Effect of successive ejaculation on stallion seminal characteristics. *J. Reprod. Fertil.*, Suppl. 27, p.7-12, 1979.
- SQUIRES, E.L.; PICKETT, B.W.; GRAHAM, J.K. et al. Biology and structure of spermatozoa and their response to cooling. In: *Cooled and frozen stallion semen*. Fort Collins: Colorado State University, 1999. p. 53-60 (College of Veterinary Medicine and Biomedical Sciences, n.9).
- SQUIRES, E. L.; BRUBAKER, J. K.; MC CUE, P. M. et al. Effect of sperm number and frequency of insemination on fertility of mares inseminated with cooled semen. *Theriogenology*, v. 49, n.4, p.743-749, 1998.
- STONE, R. Timing of mating in relation to ovulation to achieve maximum reproductive efficiency in the horse. *Equine Vet. Educ.*, v.6, n.1, p.29-31, 1994.
- STRZEZEK, J.; KORDAN, W.; KOSTYRA, H. et al. Purification and partial characterization of 5700 Da sperm motility inhibiting factor for seminal plasma of boar. *Anim. Reprod. Sci.*, v.29, n.1, p.35-52, 1992.
- SUGKRAROEK, P.; MORRIS, K.; LEADER, A. et al. Levels of cholesterol and phospholipids in freshly ejaculated sperm and percoll-gradient-pelleted sperm from fertile and unexplained infertile men. *Fertil. Steril.*, v.55, p.820-827, 1991.
- SULLIVAN, J.J.; TURNER, P.C.; SELF, L.C. et al. Survey of reproductive efficiency in the quarter horse and thoroughbred. *J. Reprod. Fertil.*, Suppl.23, p.315-318, 1975.
- TANNUS, RJ; THUN, R. Influence of endometrial cysts on conception rate of mares. *J. Vet. Med.*, v.42, p. 275, 1995.
- THACKER, D.L.; ALMQUIST, J.O. Diluters for bovine semen. I. Fertility and motility of bovine spermatozoa in boiled milk. *J. Dairy Sci.*, v.36, n.2, p. 173-180, 1953.
- TISCHNER, M. Evaluation of deep-frozen semen in stallions. *J. Reprod. Fertil.*, Suppl.27, p.53-59, 1979.
- TISCHNER, M.; KOSINIAK, K.; BIELÁŃSKI, W. Analysis of the pattern of ejaculation in stallion. *J. Reprod. Fertil.*, v.41, n.2, p.329-335, 1974.
- TISCHNER, M.; KOSINIAK, K. Techniques for collection and storage of stallion semen with minimal secondary contamination. *Acta Vet. Scand.*, Suppl.88, p. 83-90, 1992.
- TISCHNER, M. Problems of semen preservation and artificial insemination in horses. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION AND ARTIFICIAL INSEMINATION, 11, 1988. Dublin. *Proc. ...* Dublin: University College Dublin, 1988, v.5, p.354-362.
- TISCHNER, M. Results of artificial insemination of horses in Poland in the post-war period. *J. Reprod. Fertil.*, Suppl.23, p.111-114, 1975.
- TÖPFER-PETERSEN, E. Carbohydrate-based interactions on the route of a spermatozoon to fertilization. *Hum. Reprod. Update*, v.5, p.314-329, 1999a.
- TÖPFER-PETERSEN, E. Molecules on the sperm's route to fertilization. *J. Exp. Zool.*, v. 285, p.259-266, 1999b.
- TÖPFER-PETERSEN, E.; EKHLASI-HUNDRIESER, M.; KIRCHHOFF, C. et al. The role of stallion seminal proteins in fertilization. *Anim. Reprod. Sci.*, v.89, p. 159-170, 2005.
- TORRES, P.; SERRES, C.; GÓMEZ-CUÉTARA, C. et al. Effect of cholesterol-loaded cyclodextrin on the motility and plasma membrane integrity of cooled stallion sperm. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 94, n. 1-4, p. 148-151, 2006.
- TREIN, C.R.; NEVES, A.P.; de BRITO, Ê.L.R. et al. Percoll and seminal plasma during cooled storage of equine semen. *Anim. Reprod. Sci.*, v.107, p.353 (Abstract), 2008.

- TRIMECHE, A. *Estudes sur la fertilité et la cryopreservation du sperme du baudet du Poitou*. 1996. 136f. Tesis (doctoral). Universidad de Rennes. Francia.
- TRIMECHE, A.; RENARD, P.; TAINURIER, D. A procedure for poitou jackass sperm cryopreservation. *Theriogenology*, v. 50, n.5, p.793- 806, 1998.
- TROEDSSON, M.H.T.; LEE, C.S.; FRANKLIN, R. et al. Post-breeding uterine inflammation: the role of seminal plasma. *J. Reprod. Fertil.*, Suppl.56, p. 341-349, 2000.
- TROEDSSON, M.H.T.; LIU, I.K.M.; CRABO, B.G. Sperm transport and survival in the mare. *Theriogenology*, v.49, n.5, p.905-915, 1998.
- VALLE, G.R. *Efeito da rufiação e manipulação do sistema genital e transporte de sêmen, em container "Celle" modificado, na avaliação da técnica de inseminação artificial em equinos*. 1997. 349f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, MG.
- VALLE, G. R.; SILVA FILHO, J. M. Membrana plasmática do espermatozóide. *Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia*, n.36, p.45-53, 2002.
- VALLE, G. R.; SILVA FILHO, J. M.; OLIVEIRA, H. N. et al. Efeito da idade sobre a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen diluído, resfriado a 14°C e transportado. *Rev. Bras. Zootec.*, v.28, p.1031-1036, 1999.
- VAN DER HOLST, W. Stallion semen production in A.I. programs in the Netherlands. In: COUROT, M. (Ed.). *The male in farm animal reproduction*. Boston: Martinus Nijhoff Publishers, 1984. p.195-201.
- VAN RENSBURG, S.W.J.; VAN HEERDEN, J.S. Infertility in mares caused by ovarian disfunction. *J. Vet. Research*, v. 26, n.139, p.251-259, 1953.
- VARNER, D.D.; BLANCHARD, T.L.; LOVE, C.L. et al. Effects of cooling rate and storage temperature on equine spermatozoal motility parameters. *Theriogenology*, v.29, n.5, p.1043-1054, 1988.
- VARNER, D.D.; BLANCHARD, T.L.; LOVE, C.L. et al. Effects of semen fractionation and dilution ratio on equine spermatozoal motility parameters. *Theriogenology*, v.28, n.5, p.709-723, 1987.
- VARNER, D.D.; BLANCHARD, T.L.; MEYERS, J.A. Fertilizing capacity of equine spermatozoa stored for 24 hours at 5°C or 20°C. *Theriogenology*, v.32, n.4, p.515-525, 1989.
- VARNER, D.D.; BOWEN, J.A.; JOHNSON, L. Effect of heparin on capacitation/acrosome reaction of equine sperm. *Arch. Androl.*, v.31, p.199-207, 1993.
- VARNER, D.D.; DIPLOMATRE, A.C.T.; MCINTOSH, A.L. et al. Potassium penicillin G, amikacin sulfate, or a combination in seminal extender for stallions: effects on motility of stored spermatozoa. *Proc. Am. Assoc. Equine Pract.*, v.39, p.287, 1993.
- VARNER, D.D. Semen preservation in stallions: possibilities and limitations. *Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.*, v.13, n.2, p.289-291, 1991.
- VIANNA, B.C. *Inseminação artificial em éguas com sêmen congelado, "in natura" e diluído*. 2000. 63f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- VIDAMENT, M.; DUPERE, A.M.; JULIENNE, P. et al. Equine frozen semen: freezability and field results. *Theriogenology*, v.48, n.6, p.907-917, 1997.
- VIDAMENT, M.; VINCENT, P.; MARTIN, F-X. et al. Differences in ability of jennies and mares to conceive with cooled and frozen semen containing glycerol or not. *Anim. Reprod. Sci.*, n.1, v.112, p.22-35, 2009.
- VIDAMENT, M.; VICENT, P.; YVON, J. M. et al. Glycerol in semen extender is a limiting factor in the fertility in asinine and equine species. *Anim. Reprod. Sci.*, v.89, p. 302-305, 2005.

- VIEIRA, R.C.; ARRUDA, R.P.; MANZANO, A. Inseminação intracornal de equídeos com sêmen congelado em palhetas de 0,5 ml. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 22., 1985. *Anais...* Camboriú: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1985. p.298.
- VON FELLEBERG, R.; ZWEIFEL, H.R.; GRUNIG, G. et al. Proteinase inhibitors of horse seminal plasma. A high molecular mass, acid-soluble proteinase inhibitor. *Biol. Chem. Hoppe. Seyler*, v.366, p.705-712, 1985.
- VON LEPEL, J. Maintenance of fertility in the horse including artificial insemination. *Equine Vet. J.*, v.7, p.97-101, 1975.
- VOSS, J.L.; PICKETT, B.W.; SQUIRES, E.L. Stallion spermatozoa morphology and motility and their relationship to fertility. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.178, p.287-289, 1981.
- VOSS, J.L.; SQUIRES, E.L.; PICKETT, B.W. et al. Effect of number and frequency of inseminations of fertility of mares. *J. Reprod. Fertil.*, Suppl.32, p.53-57, 1982.
- WATSON, P.F. The interaction of egg yolk and ram spermatozoa studied with a fluorescent probe. *J. Reprod. Fertil.*, v.42, p.105-111, 1975.
- WATSON, P.F. The effects of cold shock on sperm cell membranes. In: Morris, G.J.; Clarke, A. (Eds.). *Effects of low temperatures on biological membranes*. London: Academic Press, 1981. p. 189-218.
- WAY, A.L.; GRIEL, L.C.J.; KILLIAN, G.J. Effects of accessory sex gland fluid on viability, capacitation, and the acrosome reaction of cauda epididymal bull spermatozoa. *J. Androl.*, v.21, p.213-219, 2000.
- WEBB, G.W.; ARNS, M.J. Case study: use of modified phosphate-buffered saline as a component of semen extenders allows the use of transported semen from two stallions. *Profes. Anim. Scient.*, v.20, n.3, p.278-281, 2004.
- WEBB, G.W.; DEAN, M.M.; HUMES, R.A. et al. A comparison of the ability of three commercially available diluents to maintain the motility of cold stored stallion semen. *J. Equine Vet. Sci.*, v. 29, n. 4, p.229-232, 2009.
- WEBER, H. *Influence of dilution media, incubation and cooling rate on cold-shock sensitivity of boar spermatozoa*. 1989. 103f. PhD Thesis (Doctor in Veterinary Science) – School of Veterinary Medicine, Hannover University.
- WEBER, J.A.; GEARY, R.T.; WOODS, G.L. Changes in accessory sex glands of stallions after sexual preparation and ejaculation. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.196, p.1084 – 1089, 1990.
- WILSHER, S.; ALLEN, W.R. The influences of maternal size, age and parity on placental and fetal development in the horse. *Theriogenology*, v.58, n.2-4, p. 833-835, 2002.
- WISHWANATH, R.; SHANNON, P.; CURSON, B. Cationic extracts of egg yolk and their effects on motility, survival and fertilizing ability of bull sperm. *Anim. Reprod. Sci.*, v.29, n.3-4, p.185-194, 1992.
- WOELDERS, H. Fundamentals and recent development in cryopreservation of bull and boar semen. *Vet. Quart.*, v.19, p.135-138, 1997.
- WOODS, G.L.; BAKER, C.B.; BALDWIN, J.L. Early pregnancy loss in broodmares. *J. Reprod. Fertil.*, Suppl.35, p.455-459, 1987.
- WOODS, G.L.; BERGFELT, D.R.; GINTHER, O.J. Effect of time of insemination relative to ovulation on pregnancy rate and embryonic loss rate in mares. *Equine Vet. J.*, v.22, p.410-415, 1990.
- WU, J.T.; TSAI, P.S.; LEE, S.L. et al. Characterization of the progesterone receptor on canine spermatozoa. *Reprod. Fertil. Dev.*, v. 17, p.714-733, 2005.
- XAVIER, I.L.G.S. *Fertilidade de éguas inseminadas com sêmen a fresco diluído, no corpo ou ápice do corno uterino, utilizando diferentes números de espermatozoides por dose inseminante*. 2006. 86f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

YANAGIMACHI, R. Mammalian fertilization.
In: KNOBIL, E.; NEILL, J.D. (Eds.),
Physiology of Reproduction. New York: Raven
Press. 1988. p.135–185.

YANCEY, P. G.; RODRIGUES, W. V.;
KILSDONK, E. P. C. et al. Cellular cholesterol
efflux mediated by cyclodextrins:
Demonstration of kinetic pools and mechanism
of efflux. *J. Biol. Chemistry*, v. 271, n. 27, p.
16026-16034, 1996.

ZAHN, F.S; PAPA, F.O.; DELL'AQUA JR.,
J.A. Cholesterol incorporation on equine sperm
membrane: effects on post-thaw sperm
parameters and fertility. *Theriogenology*, v.58,
n.2-4, p.237–240, p.2002.

ZIDANE, N.; VAILLANCOURT, D.; GUAY,
P. et al. Fertility of equine semen preserved for
up to 48 hours. *J. Reprod. Fertil.*, Suppl.44,
p.644, 1991.

ZIVOTKOV, H.I. The efficacy of mating and
insemination of mares during or after ovulation.
Anim. Breed. Abstr., v.9, n.4, p.303, 1941.
(Abstract).

7. ANEXOS

7.1. Análises estatísticas referentes ao Experimento I - Caracterização dos jatos que compõem a fração espermática rica do ejaculado de jumentos

7.1.1. Análises estatísticas referentes à Tabela 15.

Análise 1. Análise dos fatores capazes de influenciar a motilidade espermática dos jatos que compõem a fração rica do ejaculado de jumentos.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	14	0,3127	0,0223	1,00	0,4708
Erro	39	0,8697	0,0223		
Total	53	1,1824			
Coeficiente de Variação: 13,33					

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p*
Jumento	4	0,0765	0,0191	0,86	0,4981
Jato	2	0,1097	0,0549	2,46	0,0986
Jato x Jumento	8	0,1108	0,0139	0,62	0,7546

*p>0,05

Análise 2. Análise dos fatores capazes de influenciar o volume de sêmen dos jatos que compõem a fração rica do ejaculado de jumentos.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	14	661,2614	47,2330	3,25	0,0028
Erro	32	464,8850	14,5277		
Total	46	1126,1464			
Coeficiente de Variação: 56,74					

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	271,5891	67,8973	4,67	0,0044*
Jato	2	8,7653	4,3826	0,30	0,7417
Jato x Jumento	8	357,9646	44,7456	3,08	0,0109*

*p<0,05

Agrupamento pelo teste / Teste estatístico – SNK (p<0,05)				
Jato		1	2	3
Jumento				
1		abc	abc	abc
2		ab	abc	abc

3	abc	abc	abc
4	abc	a	abc
5	bc	c	abc

Análise 3. Análise dos fatores capazes de influenciar a concentração espermática/mL de sêmen dos jatos que compõem a fração rica do ejaculado de jumentos.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	14	5610533,3333	400752,3810	6,49	0,0001
Erro	39	2406750,0000	61711,5385		
Total	53	8017283,3333			
Coeficiente de Variação: 37,99					

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	622022,2222	155505,5556	2,52	0,0566
Jato	2	3817344,1176	1908672,0588	30,93	0,0001*
Jato x Jumento	8	749211,1111	93651,3889	1,52	0,1827
*p<0,05					

Análise 4. Comparação do vigor espermático, entre os jatos que compõem a fração rica do ejaculado, para o jumento 1.

Teste Kruskal-Wallis		
CHISQ	DF	Prob> CHISQ
5,3085	2	0,0704*
*p>0,05		

Análise 5. Comparação do vigor espermático entre os jatos que compõem a fração rica do ejaculado, para o jumento 2.

Teste Kruskal-Wallis		
CHISQ	DF	Prob> CHISQ
4,8125	2	0,0902*
*p>0,05		

Análise 6. Comparação do vigor espermático entre os jatos que compõem a fração rica do ejaculado, para o jumento 3.

Teste Kruskal-Wallis		
CHISQ	DF	Prob> CHISQ
0,30476	2	0,8587*
*p>0,05		

Análise 7. Comparação do vigor espermático entre os jatos que compõem a fração rica do ejaculado, para o jumento 4.

Teste Kruskal-Wallis		
CHISQ	DF	Prob> CHISQ
2,0000	2	0,3679*
*p>0,05		

Análise 8. Comparação do vigor espermático entre os jatos que compõem a fração rica do ejaculado, para o jumento 5.

Teste Kruskal-Wallis		
CHISQ	DF	Prob> CHISQ
1,1467	2	0,5636*
*p>0,05		

Análise 9. Comparação do vigor espermático do jato 1, entre os jumentos 1 e 4.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
18,0000	0	1,0000*
*p>0,05		

Análise 10. Comparação do vigor espermático do jato 1, entre os jumentos 2 e 4.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
18,0000	0	1,0000*
*p>0,05		

Análise 11. Comparação do vigor espermático do jato 1, entre os jumentos 3 e 4.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
8,0000	-1,5433	0,1227*
*p>0,05		

Análise 12. Comparação do vigor espermático do jato 1, entre os jumentos 4 e 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
6,0000	-2,1692	0,0301*
*p<0,05		

Análise 13. Comparação do vigor espermático do jato 1, entre os jumentos 1 e 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
18,0000	0	1,0000*
*p>0,05		

Análise 14. Comparação do vigor espermático do jato 1, entre os jumentos 1 e 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
8,0000	-1,5434	0,1227*
*p>0,05		

Análise 15. Comparação do vigor espermático do jato 1, entre os jumentos 1 e 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
6,0000	-2,1692	0,0301*
*p<0,05		

Análise 16. Comparação do vigor espermático do jato 1, entre os jumentos 2 e 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
8,0000	-1,5434	0,1227*
*p>0,05		

Análise 17. Comparação do vigor espermático do jato 1, entre os jumentos 2 e 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
6,0000	-2.1692	0,0301*
*p<0,05		

Análise 18. Comparação do vigor espermático do jato 1, entre os jumentos 3 e 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
8,5000	-0,7071	0,4795*
*p>0,05		

Análise 19. Comparação do vigor espermático do jato 2, entre os jumentos.

Teste Kruskal-Wallis		
CHISQ	DF	Prob> CHISQ
8,8892	4	0,0639*
*p>0,05		

Análise 20. Comparação do vigor espermático do jato 3, entre os jumentos.

Teste Kruskal-Wallis		
CHISQ	DF	Prob> CHISQ
6,1758	4	0,1864*
*p>0,05		

7.1.2. Análises estatísticas referentes à Tabela 16.

Análise 21. Comparação da concentração espermática/mL de sêmen entre os jatos que compõem a fração rica do ejaculado, independentemente do jumento.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	2	4239300,0000	2119650,0000	28,61	0,0001
Erro	51	3777983,3333	74078,1046		
Total	53	8017283,3333			
Coeficiente de Variação: 41,62					

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jato	2	4239300,0000	219650,0000	28,61	0,0001*
*p<0,05					

Teste estatístico	Agrupamento pelo teste		
	Jato 1	Jato 2	Jato 3
SNK (p<0,05)	a	b	c

7.2. Análises estatísticas referentes ao Experimento II- Efeito de diluidores e do resfriamento sobre as características físicas do sêmen de jumentos e sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas

7.2.1. Análises estatísticas referentes ao Experimento IIa - Efeito de diluidores e do resfriamento sobre as características físicas do sêmen, avaliadas a diferentes períodos de estocagem, em contêiner proposto por Palhares (1997)

7.2.1.1. Análises estatísticas referentes à Tabela 17.

Análise 22. Comparação do número de montas/ejaculado, entre os jumentos.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	4	10,7679	2,6920	10,17	0,0001
Erro	23	6,0893	0,2648		
Total	27	16,8571			
Coeficiente de Variação: 36,02					
Teste estatístico	Agrupamento pelo teste				
	Jumento 1	Jumento 2	Jumento 3	Jumento 4	Jumento 5
SNK (p<0,05)	b	b	b	a	b

Análise 23. Comparação do volume de sêmen da fração rica, entre os jumentos.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	4	2584,8355	646,2089	15,79	0,0001
Erro	23	941,0030	40,9132		

Total	27	3525,8386			
Coefficiente de Variação: 34,97					
Agrupamento pelo teste					
Teste estatístico	Jumento 1	Jumento 2	Jumento 3	Jumento 4	Jumento 5
SNK (p<0,05)	bc	a	c	b	bc
Análise 24. Comparação da motilidade espermática no sêmen <i>in natura</i> , entre os jumentos.					
Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	4	0,0669	0,0167	8,51	0,0002
Erro	23	0,0452	0,0020		
Total	27	0,1121			
Coefficiente de Variação: 3,69					
Agrupamento pelo teste					
Teste estatístico	Jumento 1	Jumento 2	Jumento 3	Jumento 4	Jumento 5
SNK (p<0,05)	a	a	a	a	b
Análise 25. Comparação da motilidade espermática do sêmen diluído, entre os jumentos.					
Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	4	0,3493	0,0087	3,79	0,0165
Erro	23	0,0530	0,0023		
Total	27	0,0879			
Coefficiente de Variação: 4,22					
Agrupamento pelo teste					
Teste estatístico	Jumento 1	Jumento 2	Jumento 3	Jumento 4	Jumento 5
SNK (p<0,05)	a	a	a	a	a
Análise 26. Comparação da concentração espermática/mL de sêmen, entre os jumentos.					
Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	4	1848359,8810	462089,9702	3,67	0,0188
Erro	23	2897336,5476	125971,1542		
Total	27	4745696,4286			
Coefficiente de Variação: 45,23					
Agrupamento pelo teste					
Teste estatístico	Jumento 1	Jumento 2	Jumento 3	Jumento 4	Jumento 5

SNK (p<0,05)	ab	b	a	b	b

Análise 27. Comparação do número de espermatozóides móveis/mL de sêmen, entre os jumentos.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	4	1319340,2774	329835,0693	3,83	0,0157
Erro	23	1978471,9369	86020,5190		
Total	27	3297812,2143			
Coeficiente de Variação: 45,39					

Agrupamento pelo teste					
Teste estatístico	Jumento 1	Jumento 2	Jumento 3	Jumento 4	Jumento 5
SNK (p<0,05)	ab	b	a	b	b

Análise 28. Comparação do número total de espermatozóides/ejaculado, entre os jumentos.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	4	383657242,9345	95914310,7336	4,41	0,0086
Erro	23	500400963,9226	21756563,6488		
Total	27	884058206,8571			
Coeficiente de Variação: 38,82					

Agrupamento pelo teste					
Teste estatístico	Jumento 1	Jumento 2	Jumento 3	Jumento 4	Jumento 5
SNK (p<0,05)	ab	a	b	ab	b

Análise 29. Comparação do número total de espermatozóides móveis/ ejaculado, entre os jumentos.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	4	314898271,9361	78724567,9840	5,07	0,0044
Erro	23	357180088,4757	15529569,0642		
Total	27	672078360,4118			
Coeficiente de Variação: 39,64					

Agrupamento pelo teste					
Teste estatístico	Jumento 1	Jumento 2	Jumento 3	Jumento 4	Jumento 5
SNK (p<0,05)	ab	a	b	ab	b

Análise 30. Comparação do vigor espermático do sêmen *in natura*, entre jumentos.

Teste Kruskal-Wallis		
CHISQ	DF	Prob> CHISQ
13,390	4	0,0095*

*p<0,05

Análise 31. Comparação do vigor espermático do sêmen *in natura*, entre os jumentos 1 e 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
44,0000	-0,1062	0,9154*
*p>0,05		

Análise 32. Comparação do vigor espermático do sêmen *in natura*, entre os jumentos 1 e 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
29,5000	-1,0000	0,3173*
*p>0,05		

Análise 33. Comparação do vigor espermático do sêmen *in natura*, entre os jumentos 1 e 4.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
8,0000	-0,9375	0,3485*
*p>0,05		

Análise 34. Comparação do vigor espermático do sêmen *in natura*, entre os jumentos 1 e 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
33,0000	-2,8423	0,0045*
*p<0,05		

Análise 35. Comparação do vigor espermático do sêmen *in natura*, entre os jumentos 2 e 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
26,5000	-0,7071	0,4795*
*p>0,05		

Análise 36. Comparação do vigor espermático do sêmen *in natura*, entre os jumentos 2 e 4.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
7,0000	-0,6614	0,5083*
*p>0,05		

Análise 37. Comparação do vigor espermático do sêmen *in natura*, entre os jumentos 2 e 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
59,0000	2,5023	0,0123*
*p<0,05		

Análise 38. Comparação do vigor espermático do sêmen *in natura*, entre os jumentos 3 e 4.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
7,5000	0	1,0000*
*p>0,05		

Análise 39. Comparação do vigor espermático do sêmen *in natura*, entre os jumentos 3 e 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
45,5000	2,1010	0,0356*
*p<0,05		

Análise 40. Comparação do vigor espermático do sêmen *in natura*, entre os jumentos 4 e 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
15,0000	1,3577	0,1746*
*p>0,05		

Análise 41. Comparação do volume de sêmen/dose inseminante, entre os jumentos.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	4	1,6517	0,4129	4,19	0,0107
Erro	23	2,2642	0,0984		
Total	27	3,9159			
Coeficiente de Variação: 39,77					

Teste estatístico	Agrupamento pelo teste				
	Jumento 1	Jumento 2	Jumento 3	Jumento 4	Jumento 5
SNK (p<0,05)	ab	ab	b	ab	a

Análise 42. Comparação do volume de diluidor /dose inseminante, entre os jumentos.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	4	1,6517	0,4129	4,19	0,0107
Erro	23	2,2642	0,0984		
Total	27	3,9159			
Coeficiente de Variação: 1,48					

Teste estatístico	Agrupamento pelo teste				
	Jumento 1	Jumento 2	Jumento 3	Jumento 4	Jumento 5
SNK (p<0,05)	ab	ab	a	ab	b

Análise 43. Comparação do número de doses inseminantes/ ejaculado, entre os jumentos.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	4	1953,2286	488,3071	5,08	0,0044
Erro	23	2212,4076	96,1916		
Total	27	4165,6362			
Coeficiente de Variação: 39,57					
Agrupamento pelo teste					
Teste estatístico	Jumento 1	Jumento 2	Jumento 3	Jumento 4	Jumento 5
SNK (p<0,05)	ab	a	b	ab	b

Tabela 29. Efeito do jumento e do diluidor sobre a motilidade espermática, avaliada após a coleta (Fresco), após a pré-diluição (PD), previamente à inseminação (Pré-IA) e à diferentes períodos de estocagem do sêmen à 5°C (24, 48 e 72 horas), em contêiner proposto por Palhares (1997).

Jumento Período de Avaliação	Diluidores									
	LPDG					LGO				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Fresco	89,38±3,35	89,17±3,87	87,00±4,24	87,50±6,71	80,71±3,59	89,38±3,35	89,17±3,87	87,00±4,24	87,50±6,71	80,71±3,59
PD	85,63±3,35	85,83±3,87	83,00±4,24	80,00±6,71	78,57±3,59	83,75±3,35	85,00±3,87	83,00±4,24	82,50±6,71	77,86±3,59
Pré- IA	70,71±3,59	72,50±3,87	70,00±4,24	75,00±6,71	65,00±3,87	45,00±3,59	40,00±3,87	48,00±4,24	57,50±6,71	47,86±3,59
24h	65,00±4,24	70,00±4,74	67,50±4,74	70,00±9,49	57,00±4,24	45,00±4,24	36,25±4,74	13,33±5,48	45,00±9,49	42,00±4,24
48h	45,00±4,74	53,33±5,48	51,25±4,74	45,00±9,49	50,00±5,48	0,00±5,48	8,75±4,74	0,00±5,48	20,00±9,49	35,00±5,48
72h	10,00±6,71	17,50±6,71	15,00±9,49	5,00±9,49	32,50±6,71	.	.	.	.	2,50±6,71

Tabela 30. Efeito do jumento e do diluidor sobre o vigor espermático, avaliada após a coleta (Fresco), após a pré-diluição (PD), previamente à inseminação (Pré-IA) e à diferentes períodos de estocagem do sêmen à 5°C (24, 48 e 72 horas), em contêiner proposto por Palhares (1997).

Jumento Período de Avaliação	Diluidores									
	LPDG					LGO				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Fresco	4,94±0,19	4,92±0,22	4,80±0,24	4,75±0,38	4,00±0,20	4,94±0,19	4,92±0,22	4,80±0,24	4,75±0,38	4,00±0,20
PD	4,25±0,19	4,67±0,22	4,50±0,24	4,00±0,38	3,93±0,20	4,38±0,19	4,33±0,22	4,40±0,24	4,00±0,38	4,29±0,20
Pré- IA	3,50±0,20	3,92±0,22	3,60±0,24	4,00±0,38	3,42±0,22	2,64±0,20	3,00±0,22	3,10±0,24	3,50±0,38	3,14±0,20
24h	3,40±0,24	3,63±0,27	3,25±0,27	4,00±0,54	3,30±0,24	3,00±0,24	2,75±0,27	1,00±0,31	3,00±0,54	2,40±0,24
48h	2,88±0,27	3,17±0,31	2,88±0,27	3,00±0,54	3,33±0,31	0,00±0,31	1,25±0,27	0,00±0,31	2,00±0,54	3,00±0,31
72h	1,25±0,38	3,00±0,38	2,50±0,54	2,00±0,54	3,00±0,38	-	-	-	-	1,00±0,38

7.2.1.2. Análises estatísticas referentes à Tabela 20

Análise 44. Comparação da motilidade espermática entre jumentos e tratamentos (diluidores), no tempo após a pré-diluição, excluindo-se o jumento 4.

Análise de Variância

Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	7	0,07771	0,0110	5,26	0,0002
Erro	44	0,0922	0,0021		
Total	51	0,1693			

Coefficiente de Variação: 3,99

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Tratamento	1	0,0018	0,0018	0,84	0,3649
Jumento	3	0,0737	0,0246	11,72	0,0001*
Tratamento x Jumento	3	0,0012	0,0004	0,19	0,9058

*p<0,05

Análise 45. Comparação da motilidade espermática, entre jumentos e tratamentos, no tempo pré-inseminação, excluindo-se o jumento 4.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	7	0,9107	1,1301	5,03	0,0004
Erro	41	1,0597	0,0258		
Total	48	1,9704			

Coefficiente de Variação: 18,82

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Tratamento	1	0,8310	0,8310	32,15	0,0001*
Jumento	3	0,0075	0,0025	0,10	0,9614
Tratamento x Jumento	3	0,0480	0,0160	0,62	0,6065

*p<0,05

Análise 46. Comparação da motilidade espermática, entre jumentos e tratamentos, no tempo 24 horas, excluindo-se o jumento 4..

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	7	1,5601	0,2229	5,63	0,0004
Erro	27	1,0684	0,0396		
Total	34	2,6285			

Coefficiente de Variação: 25,80

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Tratamento	1	1,1986	1,1986	30,29	0,0001*
Jumento	3	0,2636	0,0879	2,22	0,1087

Tratamento x Jumento	3	0,3646	0,1215	3,07	0,0446*

*p<0,05

Análise 47. Comparação da motilidade espermática, entre jumentos e tratamentos, no tempo 48 horas, excluindo-se o jumento 4.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	7	3,0094	0,4299	26,25	0,0001
Erro	19	0,3112	0,0164		
Total	26	3,3206			

Coefficiente de Variação: 25,25

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Tratamento	1	2,1757	2,1757	132,85	0,0001*
Jumento	3	0,4525	0,1508	9,21	0,0006*
Tratamento x Jumento	3	0,3967	0,1322	8,07	0,0011*

*p<0,05

Análise 48. Comparação da motilidade espermática entre jumentos e tratamentos, nos diferentes períodos de avaliação, excluindo-se o jumento 4 e o período de avaliação 72h.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	39	17,7900	0,4562	30,51	0,0001
Erro	175	2,6160	0,0149		
Total	214	20,4061			

Coefficiente de Variação: 12,86

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Tratamento	3	0,1344	0,0448	3,00	0,0322*
Jumento	1	2,9321	2,9321	196,14	0,0001*
Tempo	4	12,2606	3,0651	205,04	0,0001*
Jumento x Tratamento	3	0,3630	0,1210	8,09	0,0001*
Jumento x Tempo	12	0,8215	0,0685	4,58	0,0001*
JumentoxTratamentoxTempo	16	2,7498	0,1719	11,50	0,0001*

*p<0,05

Agrupamento pelo teste – SNK (p<0,05)		
Jumento	Diluidores	
	LPDG	LGO

Período de Avaliação	1	2	3	5	1	2	3	5
Fresco	a	a	ab	ab	a	a	ab	ab
PD	ab	ab	ab	abc	ab	ab	ab	abc
Pré- IA	abcd	abcd	abcde	bcdef	efg	fg	defg	defg
24h	bcdef	abcde	abcde	cdefg	efg	g	h	g
48h	efg	defg	defg	defg	i	h	i	g

7.2.1.3. Análises estatísticas referentes à Tabela 21.

Análise 49. Comparação do vigor espermático, entre jumentos e tratamentos, no tempo após a pré-diluição, excluindo-se o jumento 4.

Teste Kruskal-Wallis		
CHISQ	DF	Prob> CHISQ
13,850	7	0,0539*
*p>0,05		

Análise 50. Comparação do vigor espermático, entre jumentos e tratamentos, no tempo pré-inseminação, excluindo-se o jumento 4.

Teste Kruskal-Wallis		
CHISQ	DF	Prob> CHISQ
22,940	7	0,0017*
*p<0,05		

Análise 51. Comparação do vigor espermático, entre jumentos e tratamentos, no tempo 24 horas, excluindo-se o jumento 4.

Teste Kruskal-Wallis		
CHISQ	DF	Prob> CHISQ
17,310	7	0,0155*
*p<0,05		

Análise 52. Comparação do vigor espermático, entre jumentos e tratamentos, no tempo 48 horas, excluindo-se o jumento 4.

Teste Kruskal-Wallis		
CHISQ	DF	Prob> CHISQ
20,636	7	0,0043*
*p<0,05		

Análise 53. Comparação do vigor entre tratamentos e diferentes períodos de avaliação, para o jumento 1, excluindo-se o período de avaliação 72h.

Teste Kruskal-Wallis		
CHISQ	DF	Prob> CHISQ
56,886	9	0,0001*
*p<0,05		

Análise 54. Comparação do vigor espermático, entre os tratamentos LPDG e LGO, no período Fresco, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
68,0000	0	1,0000*
*p>0,05		

Análise 55. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, no tratamento LPDG e o sêmen pré-diluído em diluidor LGO, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
39,0000	-3,2778	0,0010*
*p<0,05		

Análise 56. Comparação do vigor espermático entre os períodos de avaliação fresco e após a pré-diluição, no tratamento LPDG, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
98,0000	3,3148	0,0009*
*p<0,05		

Análise 57. Comparação do vigor espermático do sêmen do jumento 1, diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação fresco e pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
28,0000	-3,3748	0,0007*
*p<0,05		

Análise 58. Comparação do vigor espermático do sêmen do jumento 1, diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação fresco e 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
15,0000	-3,1133	0,0019*
*p<0,05		

Análise 59. Comparação do vigor espermático entre sêmen a fresco, no tratamento LPDG, e o sêmen diluído em LGO, após 24 horas de armazenamento, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
15,0000	-3,2091	0,0013*
*p<0,05		

Análise 60. Comparação do vigor espermático entre o sêmen a fresco e o sêmen diluído em LPDG, após 48 horas de armazenamento, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
10,0000	-2,9615	0,0031*
*p<0,05		

Análise 61. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, no tratamento LPDG, e o sêmen diluído no diluidor LGO, no período pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
28,0000	-3,4233	0,0006*
*p<0,05		

Análise 62. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, no tratamento LPDG, e o sêmen diluído no diluidor LGO, após 48 horas de armazenamento, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
6,0000	-2,7526	0,0059*
*p<0,05		

Análise 63. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e pré-diluído, no tratamento LGO, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
97,0000	3,2778	0,0010*
*p<0,05		

Análise 64. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, no tratamento LGO, e o sêmen após a pré-diluição, no tratamento LPDG, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
98,0000	3,3148	0,0009*
*p<0,05		

Análise 65. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, no tratamento LGO, e o sêmen diluído em LPDG, no período de avaliação pré-inseminação, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
28,0000	-3,3748	0,0007*
*p<0,05		

Análise 66. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, no tratamento LGO, e o sêmen diluído em LPDG, após 24 horas de armazenamento, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z

15,0000	-3,1133	0,0019*
*p<0,05		

Análise 67. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, no tratamento LGO e o armazenado por 24 horas, do jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
15,0000	-3,2091	0,0013*
*p<0,05		

Análise 68. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, no tratamento LGO e o sêmen diluído em LPDG e armazenado por 48 horas, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
10,0000	-2,9615	0,0031*
*p<0,05		

Análise 69. Comparação do vigor espermático do sêmen entre os períodos de avaliação fresco e pré-inseminação, para o sêmen do jumento 1, diluído em LGO.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
28,0000	-3,4233	0,0006*
*p<0,05		

Análise 70. Comparação do vigor espermático entre o sêmen a fresco e o diluído em diluidor LGO e armazenado por 48 horas, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
6,0000	-2,7526	0,0059*
*p<0,05		

Análise 71. Comparação do vigor espermático, no período após a pré-diluição, entre o sêmen diluído no diluidor LPDG ou no diluidor LGO, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
76,0000	0,9375	0,3485*
*p<0,05		

Análise 72. Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído em LGO, no momento após a pré-diluição, e o diluído em LPDG, no momento pré-inseminação, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
30,0000	-3,0923	0,0020*
*p<0,05		

Análise 73. Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído em LGO, no momento após a pré-diluição, e o diluído em LPDG, após 24 horas de armazenamento, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
16,0000	-2,8749	0,0040*
*p<0,05		

Análise 74. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído em LGO, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 24 horas, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
15,0000	-3,1032	0,0019*
*p<0,05		

Análise 75. Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído em LGO, no período após a pré-diluição, e o diluído em LPDG, após 48 horas de armazenamento.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
10,0000	-2,8385	0,0045*
*p<0,05		

Análise 76. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e pré-inseminação, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
28,0000	-3,4233	0,0006*
*p<0,05		

Análise 77. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 24 horas, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
28,0000	-3,3547	0,0008*
*p<0,05		

Análise 78. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 48 horas, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
6,0000	-2,5952	0,0095*
*p<0,05		

Análise 79. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e pré-inseminação, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
32,0000	-2,8498	0,0044*
*p<0,05		

Análise 80. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 24 horas, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
17,0000	-2,6824	0,0073*
*p<0,05		

Análise 81. Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído em LPDG, no período após a pré-diluição, e o diluído em LGO, após 24 horas de armazenamento, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
15,0000	-3,0256	0,0025*
*p<0,05		

Análise 82. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 48 horas, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
10,0000	-2,7505	0,0060*
*p<0,05		

Análise 83. Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído em LPDG, no período após a pré-diluição, e o diluído em LGO, no período pré-inseminação, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
28,0000	-3,3026	0,0010*
*p<0,05		

Análise 84. Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído em LPDG, no período após a pré-diluição, e o diluído em LGO, após 48 horas de armazenamento, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
6,0000	-2,4870	0,0129*
*p<0,05		

Análise 85. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído em LPDG, entre o período de avaliação pré-inseminação e 24 horas, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z

30,0000	-0,3460	0,7293*
*p>0,05		

Análise 86. Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído em LPDG, no período de avaliação pré-inseminação, e o diluído em LGO, após 24 horas de armazenamento, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
20,0000	-2,1971	0,0280*
*p<0,05		

Análise 87. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 48 horas, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
13,0000	-2,1077	0,0351*
*p<0,05		

Análise 88. Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LPDG ou no LGO, no período de avaliação pré-inseminação, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
36,5000	-2,1447	0,0320*
*p<0,05		

Análise 89. Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído em LPDG, no período pré-inseminação e o diluído em LGO, após 48 horas de armazenamento, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
6,0000	-2,3516	0,0187*
*p<0,05		

Análise 90. Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LPDG ou no LGO, no período de avaliação 24 horas, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
20,0000	-1,8074	0,0707*
*p>0,05		

Análise 91. Comparação do vigor espermático do sêmen do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação 24 e 48 horas, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
13,0000	-1,7529	0,0796*
*p>0,05		

Análise 92. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação pré-inseminação, e o diluído em LPDG, após 24 horas de armazenamento, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
42,0000	1,6442	0,1001*
*p>0,05		

Análise 93. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação 24 horas, e o diluído em LGO, no período 48 horas, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
6,0000	-2,1658	0,0303*
*p<0,05		

Análise 94. Comparação do vigor espermático entre sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação 24 horas, e o diluído em LPDG, no período 48 horas, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
17,5000	-0,8944	0,3711*
*p>0,05		

Análise 95. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 24 horas, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
32,5000	0	1,0000*
*p>0,05		

Análise 96. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação 24 e 48 horas, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
6,0000	-2,4694	0,0135*
*p<0,05		

Análise 97. Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação pré-inseminação, e o diluído em LPDG, no período 48 horas, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
21,5000	-0,4807	0,6307*
*p>0,05		

Análise 98. Comparação do vigor espermático entre sêmen diluído no diluidor LPDG ou no LGO, no período de avaliação 48 horas, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
6,0000	-2,1004	0,0357*
*p<0,05		

Análise 99. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 48 horas, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
7,5000	-2,1418	0,0322*
*p<0,05		

Análise 100. Comparação do vigor entre tratamentos e diferentes períodos de avaliação, para o jumento 2.

Teste Kruskal-Wallis		
CHISQ	DF	Prob> CHISQ
44,797	9	0,0001*
*p<0,05		

Análise 101. Comparação do vigor espermático, entre os tratamentos LPDG e LGO, no período Fresco, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
39,0000	0	1,0000*
*p>0,05		

Análise 102. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
48,0000	1,5884	0,1122*
*p>0,05		

Análise 103. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, no tratamento LPDG, e o diluído no diluidor LGO, no período de avaliação após a pré-diluição, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
25,5000	-2,2584	0,0239*
*p<0,05		

Análise 104. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação pré-inseminação, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
56,5000	2,8551	0,0043*

*p<0,05

Análise 105. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LPDG, no período de 24 horas, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon

S	Z	Prob> Z
10,0000	-2,6245	0,0087*

*p<0,05

Análise 106. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação 48 horas, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon

S	Z	Prob> Z
6,0000	-2,4163	0,0157*

*p<0,05

Análise 107. Comparação do vigor espermático do sêmen fresco, tratamento LPDG, e o diluído em LGO, no período pré-inseminação, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon

S	Z	Prob> Z
21,0000	-3,1181	0,0018*

*p<0,05

Análise 108. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, tratamento LPDG, e o diluído no diluidor LGO, no período de avaliação 24 horas, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon

S	Z	Prob> Z
10,0000	-2,6523	0,0080*

*p<0,05

Análise 109. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, tratamento LPDG, e o diluído em LGO, no período 48 horas, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon

S	Z	Prob> Z
6,0000	-2,6245	0,0087*

*p<0,05

Análise 110. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, tratamento LGO, e o diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon

S	Z	Prob> Z
48,0000	1,5884	0,1122*

*p>0,05

Análise 111. Comparação do vigor espermático entre o sêmen a fresco e o diluído no diluidor LGO, no período de avaliação após a pré-diluição, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
52,5000	2,2584	0,0239*
*p<0,05		

Análise 112. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, tratamento LGO, e o diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação pré-inseminação, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
56,5000	2,8551	0,0043*
*p<0,05		

Análise 113. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, tratamento LGO, e o diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação 24 horas, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
10,0000	-2,6245	0,0087*
*p<0,05		

Análise 114. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, tratamento LGO, e o diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação 48 horas, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
6,0000	-2,4163	0,0156*
*p<0,05		

Análise 115. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LGO, no período de avaliação pré-inseminação, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
57,0000	3,1181	0,0018*
*p<0,05		

Análise 116. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LGO, no período de avaliação 24 horas, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
10,0000	-2,6523	0,0080*
*p<0,05		

Análise 117. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LGO, no período de avaliação 48 horas, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
10,0000	-2,6245	0,0087*
*p<0,05		

Análise 118. Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LPDG ou LGO, no período de avaliação após a pré-diluição, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
30,0000	-1,4766	0,1398*
*p>0,05		

Análise 119. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e pré-inseminação, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
55,0000	2,6031	0,0092*
*p<0,05		

Análise 120. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 24 horas, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
10,0000	-2,5461	0,0109*
*p<0,05		

Análise 121. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 48 horas, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
6,0000	-2,3134	0,0207*
*p<0,05		

Análise 122. Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição, e o diluído em LGO, no período pré-inseminação, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
21,0000	-3,0590	0,0022*
*p<0,05		

Análise 123. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição, e o diluído em LGO, no período 24 horas, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z

10,0000	-2,5715	0,0101*
*p<0,05		

Análise 124. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição, e o diluído em LGO, no período 48 horas, para o jumento 2

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
10,0000	-2,5461	0,0109*
*p<0,05		

Análise 125. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação após a pré-diluição, e o diluído em LPDG, no período pré-inseminação, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
48,5000	1,5539	0,1202*
*p>0,05		

Análise 126. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação após a pré-diluição, e o diluído em LPDG, no período 24 horas, para o jumento 2

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
13,0000	-1,9399	0,0524*
*p<0,05		

Análise 127. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação após a pré-diluição, e o diluído em LPDG, no período 48 horas, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
6,0000	-2,2517	0,0243*
*p<0,05		

Análise 128. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e pré-inseminação, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
57,0000	3,0215	0,0025*
*p<0,05		

Análise 129. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 24 horas, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
10,0000	-2,5215	0,0117*
*p<0,05		

Análise 130. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 48 horas, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
10,0000	-2,4976	0,0125*
*p<0,05		

Análise 131. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 24 horas, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
18,0000	-0,8072	0,4195*
*p>0,05		

Análise 132. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 48 horas, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
7,0000	-2,0135	0,0441*
*p<0,05		

Análise 133. Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LPDG ou no LGO, no período de avaliação pré-inseminação, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
21,0000	-3,0215	0,0025*
*p<0,05		

Análise 134. Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação pré-inseminação, e o diluído em LGO, no período 24 horas, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
10,0000	-2,5215	0,0117*
*p<0,05		

Análise 135. Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação pré-inseminação, e o diluído em LGO, no período 48 horas, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
10,0000	-2,4976	0,0125*
*p<0,05		

Análise 136. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação 24 e 48 horas, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
8,5000	-1,1225	0,2617*
*p>0,05		

Análise 137. Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação pré-inseminação, e o diluído em LGO, no período 24 horas, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
31,0000	2,2400	0,0251*
*p<0,05		

Análise 138. Comparação do vigor espermático entre sêmen diluído no diluidor LPDG ou LGO, no período de avaliação 24 horas, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
11,5000	-1,8580	0,0632*
*p<0,05		

Análise 139. Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação 24 horas, e o diluído em LGO, no período 48 horas, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
10,5000	-2,0578	0,0396*
*p<0,05		

Análise 140. Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação pré-inseminação, e o diluído em LPDG, no período 48 horas, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
18,0000	1,1785	0,2386*
*p>0,05		

Análise 141. Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação 24 horas, e o diluído em LPDG, no período 48 horas, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
15,0000	1,1024	0,2703*
*p<0,05		

Análise 142. Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LPDG ou LGO, no período de avaliação 48 horas, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z

17,0000	1,6672	0,0955*
*p>0,05		

Análise 143. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 24 horas, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
19,0000	-1,0206	0,3074*
*p>0,05		

Análise 144. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 48 horas, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
13,0000	-2,2400	0,0251*
*p<0,05		

Análise 145. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação 24 e 48 horas, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
23,0000	1,4031	0,1606*
*p>0,05		

Análise 146. Comparação do vigor entre tratamentos e diferentes períodos de avaliação, para o jumento 3.

Teste Kruskal-Wallis		
CHISQ	DF	Prob> CHISQ
36,522	9	0,0001*
*p<0,05		

Análise 147. Comparação do vigor do sêmen a fresco, entre os tratamentos LPDG e LGO, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
27,5000	0	1,000*
*p>0,05		

Análise 148. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
32,0000	0,9071	0,3643*
*p>0,05		

Análise 149. Comparação do vigor espermático entre o sêmen a fresco, tratamento LPDG, e o sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação após a pré-diluição, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
20,5000	-1,4534	0,1461*
*p>0,05		

Análise 150. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação pré-inseminação, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
39,0000	2,3632	0,0181*
*p<0,05		

Análise 151. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído em LPDG, no período de avaliação 24 horas, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
10,0000	-2,3980	0,0165*
*p<0,05		

Análise 152. Comparação do vigor espermático entre sêmen fresco, tratamento LPDG, e o diluído no diluidor LGO, no período de avaliação pré-inseminação, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
15,0000	-2,6291	0,0086*
*p<0,05		

Análise 153. Comparação do vigor espermático entre o sêmen a fresco e o diluído no diluidor LPDG, após 48 horas de armazenamento, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
10,0000	-2,4195	0,0155*
*p<0,05		

Análise 154. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, tratamento LPDG, e o diluído no diluidor LGO, após 24 horas de armazenamento, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
6,0000	-2,1658	0,0303*
*p<0,05		

Análise 155. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, tratamento LPDG, e o diluído no diluidor LGO, após 48 horas de armazenamento, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
6,0000	-2,2087	0,0272*
*p<0,05		

Análise 156. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, tratamento LGO, e o diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
32,0000	0,9071	0,3643*
*p>0,05		

Análise 157. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LGO, no período de avaliação após a pré-diluição, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
34,5000	1,4534	0,1461*
*p>0,05		

Análise 158. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, tratamento LGO, e o diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação pré-inseminação, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
39,0000	2,3632	0,0181*
*p<0,05		

Análise 159. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, tratamento LGO e o diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação 24 horas, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
10,0000	-2,3980	0,0165*
*p<0,05		

Análise 160. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LGO, no período de avaliação pré-inseminação, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
40,0000	-2,6291	0,0086*
*p<0,05		

Análise 161. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, tratamento LGO, e o sêmen diluído no diluidor LPDG, após 48 horas de armazenamento, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z

10,0000	-2,4195	0,0155*
*p<0,05		

Análise 162. Comparação do vigor entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LGO, no período de avaliação 24 horas, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
6,0000	-2,1658	0,0303*
*p<0,05		

Análise 163. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LGO, no período de avaliação 48 horas, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
6,0000	-2,2087	0,0272*
*p<0,05		

Análise 164. Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LPDG ou no LGO, no período de avaliação após a pré-diluição, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
26,0000	-0,2213	0,8248*
*p>0,05		

Análise 165. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e pré-inseminação, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
36,5000	-1,8145	0,0696*
*p<0,05		

Análise 166. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 24 horas, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
10,0000	-2,3668	0,0179*
*p<0,05		

Análise 167. Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição, e o diluído em LGO, no período pré-inseminação, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
15,0000	-2,6032	0,0092*
*p<0,05		

Análise 168. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 48 horas, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
10,0000	-2,3875	0,0170*
*p<0,05		

Análise 169. Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição, e o diluído em LGO, no período 24 horas, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
6,0000	-2,1253	0,0336*
*p<0,05		

Análise 170. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição, e o diluído em LGO, no período 48 horas, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
6,0000	-2,1658	0,0303*
*p<0,05		

Análise 171. Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação após a pré-diluição, e o diluído em LPDG, no período pré-inseminação, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
36,0000	1,7187	0,0857*
*p>0,05		

Análise 172. Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação após a pré-diluição, e o diluído em LPDG, no período 24 horas, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
10,0000	-2,3668	0,0179*
*p<0,05		

Análise 173. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e pré-inseminação, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
40,0000	2,6032	0,0092*
*p<0,05		

Análise 174. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação após a pré-diluição, e o diluído em LPDG, no período 48 horas, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
10,0000	-2,3875	0,0170*
*p<0,05		

Análise 175. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 24 horas, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
6,0000	-2,1253	0,0336*
*p<0,05		

Análise 176. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 48 horas, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
6,0000	-2,1658	0,0303*
*p<0,05		

Análise 177. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 24 horas, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
17,0000	-0,6516	0,5147*
*p>0,05		

Análise 178. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG ou no LGO, no período de avaliação pré-inseminação, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
21,5000	-1,2994	0,1938*
*p>0,05		

Análise 179. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 48 horas, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
13,0000	-1,7441	0,0811*
*p>0,05		

Análise 180. Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação pré-inseminação, e o diluído em LGO, no período 24 horas, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z

7,0000	-1,8446	0,0651*
*p>0,05		

Análise 181. Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação pré-inseminação, e o diluído em LGO, no período 48 horas, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
6,0000	-2,1520	0,0314*
*p<0,05		

Análise 182. Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação pré-inseminação, e o diluído em LPDG, no período 24 horas, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
23,0000	-0,7454	0,4561*
*p>0,05		

Análise 183. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação 24 e 48 horas, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
23,0000	-1,5000	0,1336*
*p>0,05		

Análise 184. Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LPDG ou LGO, no período de avaliação 24 horas, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
7,0000	-1,6838	0,0922*
*p>0,05		

Análise 185. Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação 24 horas, e o diluído em LGO, no período 48 horas, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
6,0000	-2,0579	0,0396*
*p<0,05		

Análise 186. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação pré-inseminação, e o diluído em LPDG, no período 48 horas, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
16,0000	-1,1739	0,2404*
*p>0,05		

Análise 187. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 24 horas, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
8,0000	-1,7213	0,0852*
*p>0,05		

Análise 188. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 48 horas, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
6,0000	-2,2862	0,0222*
*p<0,05		

Análise 189. Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação 24 horas, e o diluído em LPDG, no período 48 horas, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
8,5000	-1,1832	0,2367*
*p>0,05		

Análise 190. Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LPDG ou no LGO, no período de avaliação 48 horas, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
6,0000	-2,1004	0,0357*
*p<0,05		

Análise 191. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação 24 e 48 horas, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
12,0000	0,6667	0,5050*
*p>0,05		

Análise 192. Comparação do vigor espermático entre tratamentos e diferentes períodos de avaliação, para o jumento 5.

Teste Kruskal-Wallis		
CHISQ	DF	Prob> CHISQ
37,976	9	0,0001*
*p<0,05		

Análise 193. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, tratamento LPDG, e o diluído no diluidor LGO, no período de avaliação após a pré-diluição, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
62,0000	1,2100	0,2263*
*p>0,05		

Análise 194. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LGO, no período de avaliação após a pré-diluição, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
43,0000	-1,2100	0,2263*
*p>0,05		

Análise 195. Comparação do vigor espermático entre os tratamentos LPDG e LGO, no período de avaliação após a pré-diluição, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
66,0000	1,8224	0,0684*
*p>0,05		

Análise 196. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação após a pré-diluição, e o diluído em LPDG, no período pré-inseminação, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
22,5000	-2,8126	0,0049*
*p<0,05		

Análise 197. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação após a pré-diluição, e o diluído em LPDG, no período 24 horas, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
16,5000	-2,6300	0,0085*
*p<0,05		

Análise 198. Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação após a pré-diluição, e o diluído em LPDG, no período 48 horas, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
6,0000	-2,3905	0,0168*
*p<0,05		

Análise 199. Comparação do vigor espermático do sêmen fresco e o diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e pré-inseminação, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z

77,0000	3,1918	0,0014*
*p<0,05		

Análise 200. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 24 horas, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
15,0000	-2,8845	0,0039*
*p<0,05		

Análise 201. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 48 horas, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
6,0000	-2,4147	0,0157*
*p<0,05		

Análise 202. Comparação do vigor espermático do sêmen fresco, entre os tratamentos LPDG e LGO, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
52,5000	0	1,000*
*p>0,05		

Análise 203. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
52,5000	0	1,000*
*p>0,05		

Análise 204. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação pré-inseminação, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
29,5000	-1,8170	0,0692*
*p>0,05		

Análise 205. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação 24 horas, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
20,5000	-1,9293	0,0537*
*p>0,05		

Análise 206. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação 48 horas, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
9,0000	-1,7078	0,0877*
*p>0,05		

Análise 207. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, tratamento LPDG, e o diluído no diluidor LGO, no período de avaliação pré-inseminação, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
31,0000	-2,8130	0,0049*
*p<0,05		

Análise 208. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, tratamento LPDG, e o diluído no diluidor LGO, no período de avaliação 24 horas, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
15,0000	-2,8362	0,0046*
*p<0,05		

Análise 209. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, tratamento LPDG, e o diluído no diluidor LGO, no período de avaliação 48 horas, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
6,0000	-2,3440	0,0191*
*p<0,05		

Análise 210. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, tratamento LGO, e o diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
52,5000	0	1,000*
*p>0,05		

Análise 211. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, tratamento LGO, e o diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação pré-inseminação, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
29,5000	-1,8170	0,0692*
*p>0,05		

Análise 212. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, tratamento LGO, e o diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação 24 horas, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
20,5000	-1,9293	0,0537*
*p>0,05		

Análise 213. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco, tratamento LGO, e o diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação 48 horas, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
9,0000	-1,7078	0,0877*
*p>0,05		

Análise 214. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LGO, no período de avaliação pré-inseminação, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
74,0000	2,8130	0,0049*
*p<0,05		

Análise 215. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LGO, no período de avaliação 24 horas, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
15,0000	-2,8362	0,0046*
*p<0,05		

Análise 216. Comparação do vigor espermático entre o sêmen fresco e o diluído no diluidor LGO, no período de avaliação 48 horas, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
6,0000	-2,3440	0,0191*
*p<0,05		

Análise 217. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e pré-inseminação, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
28,0000	-2,0473	0,0406*
*p<0,05		

Análise 218. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 24 horas, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z

20,0000	-2,0518	0,0402*
*p<0,05		

Análise 219. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 48 horas, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
8,0000	-1,9451	0,0518*
*p>0,05		

Análise 220. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição, e o diluído em LGO, no período pré-inseminação, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
30,0000	-2,9434	0,0032*
*p<0,05		

Análise 221. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição, e o diluído em LGO, no período 24 horas, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
15,0000	-2,8681	0,0041*
*p<0,05		

Análise 222. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição, e o diluído em LGO, no período 48 horas, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
6,0000	-2,3905	0,0168*
*p<0,05		

Análise 223. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 24 horas, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
27,0000	-0,4924	0,6224*
*p>0,05		

Análise 224. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 48 horas, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
14,0000	-0,1443	0,8852*
*p>0,05		

Análise 225. Comparação do vigor espermático entre os tratamentos LPDG e LGO, no período de avaliação pré-inseminação, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
51,0000	1,3651	0,1722*
*p>0,05		

Análise 226. Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação pré-inseminação, e o diluído em LGO, no período 24 horas, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
19,0000	-2,1135	0,0346*
*p<0,05		

Análise 227. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação pré-inseminação, e o diluído em LGO, no período 48 horas, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
9,0000	-1,5877	0,1124*
*p>0,05		

Análise 228. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, entre os períodos de avaliação 24 e 48 horas, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
14,5000	0,1633	0,8703*
*p>0,05		

Análise 229. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, no período pré-inseminação, e o diluído em LPDG, no período de avaliação 48 horas, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
20,5000	0,9354	0,3496 *
*p>0,05		

Análise 230. Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LPDG ou LGO, no período de avaliação 48 horas, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
7,5000	-1,3176	0,1876*
*p>0,05		

Análise 231. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação 24 horas, e o diluído em LPDG, no período 48 horas, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
19,0000	1,7213	0,0852*
*p>0,05		

Análise 232. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, no período de avaliação pré-inseminação, e o diluído em LPDG, no período 24 horas, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
35,5000	0,4880	0,6256*
*p>0,05		

Análise 233. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LPDG, no período de avaliação 24 horas, e o diluído em LGO, no período 48 horas, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
10,5000	-0,9759	0,3291*
*p>0,05		

Análise 234. Comparação do vigor espermático entre o sêmen diluído no diluidor LPDG ou no LGO, no período de avaliação 24 horas, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
21,0000	-1,5421	0,1231*
*p>0,05		

Análise 235. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 48 horas, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
13,5000	-0,8183	0,4132*
*p>0,05		

Análise 236. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 24 horas, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
25,0000	-1,4967	0,1345*
*p>0,05		

Análise 237. Comparação do vigor espermático do sêmen diluído no diluidor LGO, entre os períodos de avaliação 24 e 48 horas, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z

15,0000	0,5164	0,6056*
*p>0,05		

Análise 238. Comparação do vigor espermático entre os jumentos, no tratamento LPDG e no período de avaliação fresco.

Teste Kruskal-Wallis		
CHISQ	DF	Prob> CHISQ
12,987	3	0,0047*
*p<0,05		

Análise 239. Comparação do vigor espermático entre os jumentos 1 e 5, para o tratamento LPDG, no período de avaliação fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
33,0000	-2,8423	0,0045*
*p<0,05		

Análise 240. Comparação do vigor espermático entre os jumentos 1 e 2, para o tratamento LPDG, no período de avaliação fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
44,0000	-0,1062	0,9154*
*p>0,05		

Análise 241. Comparação do vigor espermático entre os jumentos 1 e 3, para o tratamento LPDG, no período de avaliação fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
29,5000	-1,000	0,3173*
*p>0,05		

Análise 242. Comparação do vigor espermático entre os jumentos 2 e 5, para o tratamento LPDG, no período de avaliação fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
59,0000	2,5023	0,0123*
*p<0,05		

Análise 243. Comparação do vigor espermático entre os jumentos 3 e 5, para o tratamento LPDG, no período de avaliação fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
45,5000	2,1010	0,0356*
*p<0,05		

Análise 244. Comparação do vigor espermático entre os jumentos 2 e 3, para o tratamento LPDG, no período de avaliação fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
26,5000	-0,7071	0,4795*
*p>0,05		

Análise 245. Comparação do vigor espermático entre os jumentos, no tratamento LPDG e no período de avaliação após a pré-diluição, excluindo-se o jumento 4.

Teste Kruskal-Wallis		
CHISQ	DF	Prob> CHISQ
10,922	3	0,0122*
*p<0,05		

Análise 246. Comparação do vigor espermático entre os jumentos 1 e 5, para o tratamento LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
42,0000	-1,7332	0,0831*
*p>0,05		

Análise 247. Comparação do vigor espermático entre os jumentos 1 e 2, para o tratamento LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
61,0000	2,2496	0,0245*
*p<0,05		

Análise 248. Comparação do vigor espermático entre os jumentos 1 e 3, para o tratamento LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
41,0000	0,8753	0,3814*
*p>0,05		

Análise 249. Comparação do vigor espermático entre os jumentos 2 e 5, para o tratamento LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
61,0000	2,7673	0,0057*
*p<0,05		

Análise 250. Comparação do vigor espermático entre os jumentos 3 e 5, para o tratamento LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
43,5000	1,8312	0,0671*
*p>0,05		

Análise 251. Comparação do vigor espermático entre os jumentos 2 e 3, para o tratamento LPDG, no período de avaliação após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
27,0000	-0,4924	0,6224*
*p>0,05		

Análise 252. Comparação do vigor espermático entre os jumentos, no tratamento LPDG e no período de avaliação pré-inseminação.

Teste Kruskal-Wallis		
CHISQ	DF	Prob> CHISQ
4,0184	3	0,2595*
*p>0,05		

Análise 253. Comparação do vigor espermático entre os jumentos, no tratamento LPDG e no período de avaliação 24 horas.

Teste Kruskal-Wallis		
CHISQ	DF	Prob> CHISQ
1,8882	3	0,5959*
*p>0,05		

Análise 254. Comparação do vigor espermático entre os jumentos, no tratamento LPDG e no período de avaliação 48 horas.

Teste Kruskal-Wallis		
CHISQ	DF	Prob> CHISQ
5,6432	3	0,1303*
*p>0,05		

Análise 255. Comparação do vigor espermático entre os jumentos, no tratamento LGO e no período de avaliação fresco, excluindo-se o jumento 4.

Teste Kruskal-Wallis		
CHISQ	DF	Prob> CHISQ
12,987	3	0,0047*
*p<0,05		

Análise 256. Comparação do vigor espermático entre os jumentos 1 e 5, no tratamento LGO e no período de avaliação fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z

33,0000	-2,8423	0,0045*
*p<0,05		

Análise 257. Comparação do vigor espermático entre os jumentos 1 e 2, no tratamento LGO e no período de avaliação fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
44,0000	-0,1062	0,9154*
*p>0,05		

Análise 258. Comparação do vigor espermático entre os jumentos 1 e 3, no tratamento LGO e no período de avaliação fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
29,5000	-1,0000	0,3173*
*p>0,05		

Análise 259. Comparação do vigor espermático entre os jumentos 2 e 5, no tratamento LGO e no período de avaliação fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
59,0000	2,5023	0,0123*
*p<0,05		

Análise 260. Comparação do vigor espermático entre os jumentos 3 e 5, no tratamento LGO e no período de avaliação fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
45,5000	2,1010	0,0356*
*p<0,05		

Análise 261. Comparação do vigor espermático entre os jumentos 2 e 3, no tratamento LGO e no período de avaliação fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
26,5000	-0,7071	0,4795*
*p>0,05		

Análise 262. Comparação do vigor espermático entre os jumentos, no tratamento LGO e no período de avaliação após a pré-diluição, excluindo-se o jumento 4.

Teste Kruskal-Wallis		
CHISQ	DF	Prob> CHISQ
0,4993	3	0,9190*
*p>0,05		

Análise 263. Comparação do vigor espermático entre os jumentos, no tratamento LGO e no período de avaliação pré-inseminação, excluindo-se o jumento 4.

Teste Kruskal-Wallis		
CHISQ	DF	Prob> CHISQ
2,1012	3	0,5517*
*p>0,05		

Análise 264. Comparação do vigor espermático entre os jumentos, no tratamento LGO e no período de avaliação 24 horas, excluindo-se o jumento 4.

Teste Kruskal-Wallis		
CHISQ	DF	Prob> CHISQ
4,8893	3	0,1801*
*p>0,05		

Análise 265. Comparação do vigor espermático entre os jumentos, no tratamento LGO e no período de avaliação 48 horas, excluindo-se o jumento 4.

Teste Kruskal-Wallis		
CHISQ	DF	Prob> CHISQ
8,7833	3	0,0323*
*p<0,05		

Análise 266. Comparação do vigor espermático entre os jumentos 1 e 5, no tratamento LGO e no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
15,0000	1,9876	0,0469*
*p<0,05		

Análise 267. Comparação do vigor espermático entre os jumentos 1 e 2, no tratamento LGO e no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
9,0000	-1,1024	0,2703*
*p>0,05		

Análise 268. Comparação do vigor espermático entre os jumentos 1 e 3, no tratamento LGO e no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
10,5000	0	1,0000*
*p>0,05		

Análise 269. Comparação do vigor espermático entre os jumentos 2 e 5, no tratamento LGO e no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
16,5000	1,5776	0,1147*
*p>0,05		

Análise 270. Comparação do vigor espermático entre os jumentos 3 e 5, no tratamento LGO e no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
15,0000	1,9876	0,0469*
*p<0,05		

Análise 271. Comparação do vigor espermático entre os jumentos 2 e 3, no tratamento LGO e no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
9,0000	-1,1024	0,2703*
*p>0,05		

7.2.2. Análises estatísticas referentes ao Experimento IIb - Taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen asinino diluído nos diluidores de Leite em Pó Desnatado – Glicose (LPDG) ou Lactose – Gema de Ovo modificado (LGO) e resfriado em contêiner proposto por Palhares (1997).

Tabela 31. Parâmetros de controle e de resultados de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, considerando-se o efeito do jumento e do diluidor utilizados.

Tratamento Parâmetros Avaliados	Jumentos									
	1		2		3		4		5	
	LPDG	LGO	LPDG	LGO	LPDG	LGO	LPDG	LGO	LPDG	LGO
Nº de éguas	9	8	3	3	3	2	3	2	5	6
Idade (anos)	10,22± 1,04	10,13± 1,10	10,67± 1,80	10,00± 1,80	9,17± 1,80	10,25± 2,21	9,00± 1,80	12,75± 2,21	10,60± 1,40	11,08± 1,27
Volume de sêmen (mL)	0,67± 0,09	0,57± 0,10	0,91± 0,10	0,92± 0,14	0,60± 0,16	0,71± 0,23	1,02± 0,18	0,92± 0,23	1,15± 0,13	1,05± 0,10
Volume de diluidor (mL)	21,33± 0,09	21,43± 0,10	21,09± 0,10	21,08± 0,14	21,40± 0,16	21,30± 0,23	20,98± 0,18	21,09± 0,23	20,85± 0,13	20,95± 0,10
Sptz/dose inseminante*	401,57± 0,79	402,92± 0,86	400,61± 0,90	401,08± 1,27	397,54± 1,42	397,98± 2,02	398,82± 1,65	399,89± 2,02	401,91± 1,16	403,27± 0,90
Coleta /pré diluição (min)	2,92± 0,30	3,00± 0,33	3,00± 0,34	2,80± 0,49	3,25± 0,54	2,50± 0,77	2,00± 0,63	2,50± 0,77	4,00± 0,44	3,40± 0,34
Coleta/Diluição (min)	16,62± 1,26	13,64± 1,37	22,50± 1,61	24,00± 2,28	14,00± 2,63	15,00± 4,56	31,00± 2,63	20,50± 3,22	17,17± 1,86	17,90± 1,44
Coleta - Resfriamento (min)	21,92± 1,24	18,82± 1,35	27,90± 1,41	29,00± 2,00	17,25± 2,24	17,50± 3,16	35,00± 2,58	24,50± 3,16	21,60± 2,00	22,14± 1,69
Coleta - IA (h)	18,26± 0,33	18,00± 0,36	18,31± 0,38	18,29± 0,54	18,08± 0,60	18,81± 0,85	15,89± 0,70	15,26± 0,85	18,47± 0,49	17,96± 0,38
Nº de IAs/ciclo	1,44± 0,29	1,38± 0,31	3,33± 0,51	1,67± 0,51	1,33± 0,51	1,00± 0,62	1,00± 0,51	1,00± 0,62	1,20± 0,39	1,67± 0,36
Ciclos/gestação	1,50	8,00	1,00	.	3,00	.	3,00	.	2,50	.

Taxa de
gestação/ ciclo 66,67 (6/9) 12,5 (1/8) 100 (3/3) 0,00 (0/3) 33,33 (1/3) 0,00 (0/2) 33,33 (1/3) 0,00 (0/2) 40,00 (2/5) 0,00 (0/6)
(%)

* Sptz - milhões de sptz móveis.

LPDG - Diluidor de Leite em Pó Desnatado – Glicose (Kenney et al., 1983).

LGO - Diluidor de Lactose Gema de Ovo (Nagase e Graham, 1964) modificado pela remoção do glicerol.

7.2.2.1. Análises estatísticas referentes à Tabela 31.

Análise 272. Comparação da idade das éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, considerando-se o efeito de jumentos e tratamentos.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	9	25,9631	2,8849	0,30	0,9709
Erro	34	330,9222	9,7330		
Total	43	356,8864			
Coeficiente de Variação: 30,17					

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p*
Jumento	4	6,3975	1,5994	0,16	0,9550
Diluidor	1	7,0596	7,0596	0,73	0,4004
Jumento x Diluidor	4	16,6294	4,1574	0,43	0,7880
*p>0,05					

Análise 273. Comparação do volume de sêmen/dose inseminante entre jumentos e tratamentos.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	9	2,6646	0,2961	2,90	0,0070
Erro	56	5,7270	0,1023		
Total	65	8,3915			
Coeficiente de Variação: 38,57					

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	2,5228	0,6307	6,17	0,0003*
Diluidor	1	0,0148	0,0148	0,15	0,7047
Jumento x Diluidor	4	0,0712	0,0178	0,17	0,9508
*p<0,05					

Análise 274. Comparação do volume de diluidor/dose inseminante, entre jumentos e tratamentos.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	9	2,6646	0,2961	2,90	0,0070
Erro	56	5,7270	0,1023		

Total	65	8,3915
Coefficiente de Variação: 1,51		

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	2,5228	0,6307	6,17	0,0003*
Diluidor	1	0,0148	0,0148	0,15	0,7047
Jumento x Diluidor	4	0,0712	0,0178	0,17	0,9508

*p<0,05

Análise 275. Comparação do número de espermatozoides/dose inseminante, entre jumentos e tratamentos.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	9	176,4831	19,6092	2,41	0,0215
Erro	56	454,7579	8,1207		
Total	65	631,2409			
Coefficiente de Variação: 0,71					

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	133,0702	33,2675	4,10	0,0056*
Diluidor	1	9,4532	9,4532	1,16	0,2852
Jumento x Diluidor	4	2,5140	0,6285	0,08	0,9889

*p<0,05

Análise 276. Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e a sua pré-diluição, em minutos, entre jumentos e tratamentos.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	9	11,8845	1,3205	1,12	0,3626
Erro	56	65,8731	1,1763		
Total	65	77,7576			
Coefficiente de Variação: 35,44					

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p*
Jumento	4	10,0472	2,5118	2,14	0,0884
Diluidor	1	0,4085	0,4085	0,35	0,5580
Jumento x Diluidor	4	2,0440	0,5110	0,43	0,7832

*p>0,05

Análise 277. Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e a sua diluição, em minutos, entre jumentos e tratamentos.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	9	1116,4066	124,0452	5,97	0,0001
Erro	51	1059,8557	20,7815		
Total	60	2176,2623			
Coefficiente de Variação: 24,94					

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	818,2896	204,5724	9,84	0,0001*
Diluidor	1	35,2716	35,2716	1,70	0,1985
Jumento x Diluidor	4	157,1959	39,3740	1,89	0,1256
*p<0,05					

Análise 278. Comparação entre a coleta do sêmen e seu resfriamento, em minutos, entre jumentos e tratamentos.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	9	1269,7818	141,0869	7,06	0,0001
Erro	52	1039,2666	19,9859		
Total	61	2309,0484			
Coefficiente de Variação: 19,29					

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	963,1068	240,7767	12,05	0,0001*
Diluidor	1	57,2976	57,2976	2,87	0,0964
Jumento x Diluidor	4	150,5494	37,6374	1,88	0,1273
*p<0,05					

Análise 279. Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e a inseminação artificial, em horas, entre jumentos e tratamentos.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	9	33,3771	3,7086	2,55	0,0155
Erro	56	81,3093	1,4520		
Total	65	114,6864			
Coefficiente de Variação: 6,69					

Análise de Variância

Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p*
Jumento	4	31,6143	7,9036	5,44	0,0009*
Diluidor	1	0,2067	0,2067	0,14	0,7074
Jumento x Diluidor	4	1,8580	0,4645	0,32	0,8635

*p<0,05

Análise 280. Determinação da interação jumento x tratamento para a variável número de inseminações/ciclo.

Teste Kruskal-Wallis		
CHISQ	DF	Prob> CHISQ
9,8634	9	0,3617*

*p>0,05

Análise 281. Comparação do número de inseminações/ciclo, entre os jumentos 1 e 2, no tratamento LPDG.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
27,0000	1,4464	0,1481*

*p>0,05

Análise 282. Comparação do número de inseminações/ciclo, entre os jumentos 1 e 3, no tratamento LPDG.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
19,0000	0	1,0000*

*p>0,05

Análise 283. Comparação do número de inseminações/ciclo, entre os jumentos 1 e 4, no tratamento LPDG.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
15,0000	-0,9737	0,3302*

*p>0,05

Análise 284. Comparação do número de inseminações/ciclo, entre os jumentos 1 e 5, no tratamento LPDG.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
34,0000	-0,5045	0,6139*

*p>0,05

Análise 285. Comparação do número de inseminações/ciclo, entre os jumentos 2 e 3, no tratamento LPDG.

Teste Wilcoxon		

S	Z	Prob> Z
13,0000	0,9275	0,3537*
*p>0,05		

Análise 286. Comparação do número de inseminações/ciclo, entre os jumentos 2 e 4, no tratamento LPDG.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
13,5000	1,2910	0,1967*
*p>0,05		

Análise 287. Comparação do número de inseminações/ciclo, entre os jumentos 2 e 5, no tratamento LPDG.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
18,0000	1,3663	0,1719*
*p>0,05		

Análise 288. Comparação do número de inseminações/ciclo, entre os jumentos 3 e 4, no tratamento LPDG.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
12,0000	0,6667	0,5050*
*p>0,05		

Análise 289. Comparação do número de inseminações/ciclo, entre os jumentos 3 e 5, no tratamento LPDG.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
14,5000	0,1972	0,8437*
*p>0,05		

Análise 290. Comparação do número de inseminações/ciclo, entre os jumentos 4 e 5, no tratamento LPDG.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
12,0000	-0,5164	0,6056*
*p>0,05		

Análise 291. Comparação do número de inseminações/ciclo, entre os jumentos 1 e 2, no tratamento LGO.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
23,5000	1,3029	0,1926*
*p>0,05		

Análise 292. Comparação do número de inseminações/ciclo, entre os jumentos 1 e 3, no tratamento LGO.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
10,0000	-0,2500	0,8026*
*p>0,05		

Análise 293. Comparação do número de inseminações/ciclo, entre os jumentos 1 e 4, no tratamento LGO.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
10,0000	-0,2500	0,8026*
*p>0,05		

Análise 294. Comparação do número de inseminações/ciclo, entre os jumentos 1 e 5, no tratamento LGO.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
52,5000	1,1339	0,2568*
*p>0,05		

Análise 295. Comparação do número de inseminações/ciclo, entre os jumentos 2 e 3, no tratamento LGO.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
4,0000	-1,0000	0,3173*
*p>0,05		

Análise 296. Comparação do número de inseminações/ciclo, entre os jumentos 2 e 4, no tratamento LGO.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
4,0000	-1,0000	0,3173*
*p<0,05		

Análise 297. Comparação do número de inseminações/ciclo, entre os jumentos 2 e 5, no tratamento LGO.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
15,5000	0	1,0000*
*p>0,05		

Análise 298. Comparação do número de inseminações/ciclo, entre os jumentos 3 e 4, no tratamento LGO.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
5,0000	0	1,0000*
*p>0,05		

Análise 299. Comparação do número de inseminações/ciclo, entre os jumentos 3 e 5, no tratamento LGO.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
6,0000	-0,9623	0,3359*
*p>0,05		

Análise 300. Comparação do número de inseminações/ciclo, entre os jumentos 4 e 5, no tratamento LGO.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
6,0000	-0,9623	0,3359*
*p>0,05		

Análise 301. Comparação da taxa de gestação/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado para o jumento 1.

Frequência	LPDG	LGO	Total
Gestantes	6	1	7
Não gestantes	3	7	10
Total	9	8	17

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	5,130	1	0,024

Análise 302. Comparação da taxa de gestação/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado, para o jumento 2.

Frequência	LPDG	LGO	Total
Gestantes	3	0	3
Não gestantes	0	3	3
Total	3	3	6

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	6,000	1	0,014

Análise 303. Comparação da taxa de gestação/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado, para o jumento 3.

Frequência	LPDG	LGO	Total
Gestantes	1	0	1
Não gestantes	2	2	4
Total	3	2	5

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	0,833	1	0,361

Análise 304. Comparação da taxa de gestação/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado, para o jumento 4.

Frequência	LPDG	LGO	Total
Gestantes	1	0	1
Não gestantes	2	2	4
Total	3	2	5

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	0,833	1	0,361

Análise 305. Comparação da taxa de gestação/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado, para o jumento 5.

Frequência	LPDG	LGO	Total
Gestantes	2	0	2
Não gestantes	3	6	9
Total	5	6	11

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	2,933	1	0,087

7.2.2.2. Análises referentes à Tabela 22.

Análise 306. Comparação da idade das éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado.

Tratamento	N	Média	Erro Padrão	Variâncias	T	DF	Prob>T
LPDG	23	10,07	0,63	Igual	-0,6629	42,0	0,5110
LGO	21	10,64	0,60	Desigual	-0,6599	42,0	0,5129

F	DF	Prob>F
1,21	22,20	0,6729

Análise 307. Comparação do volume de sêmen/dose inseminante de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado.

Tratamento	N	Média	Erro Padrão	Variâncias	T	DF	Prob>T
LPDG	36	0,84	0,06	Igual	0,1832	56,7	0,8553
LGO	30	0,82	0,07	Desigual	0,1862	64,0	0,8528

F	DF	Prob>F
1,45	29,35	0,3130

Análise 308. Comparação do volume de diluidor/dose inseminante de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado.

Tratamento	N	Média	Erro Padrão	Variâncias	T	DF	Prob>T
LPDG	36	21,16	0,06	Igual	-0,1832	56,7	0,8553
LGO	30	21,18	0,07	Desigual	-0,1862	64,0	0,8528

F	DF	Prob>F
1,43	29,35	0,3130

Análise 309. Comparação do número de espermatozoides/dose inseminante de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado..

Tratamento	N	Média	Erro Padrão	Variâncias	T	DF	Prob>T
LPDG	36	400,68	0,44	Igual	-1,9651	54,0	0,0546
LGO	30	402,20	0,63	Desigual	-2,0115	64,0	0,0485

F	DF	Prob>F
1,67	29,35	0,1455

Análise 310. Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e a sua pré-diluição, em minutos, para o sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado.

Tratamento	N	Média	Erro Padrão	Variâncias	T	DF	Prob>T
LPDG	36	3,08	0,18	Igual	0,1837	62,0	0,8549
LGO	30	3,03	0,20	Desigual	0,1835	64,0	0,8550

F	DF	Prob>F
1,01	35,29	0,9801

Análise 311. Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e a sua diluição, em minutos, para o sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado.

Tratamento	N	Média	Erro Padrão	Variâncias	T	DF	Prob>T
LPDG	33	19,21	1,07	Igual	1,3292	58,4	0,1889
LGO	28	17,18	1,09	Desigual	1,3223	59,0	0,1912

F	DF	Prob>F
1,13	32,27	0,7458

Análise 312. Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e o seu resfriamento, em minutos, para o sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado.

Tratamento	N	Média	Erro Padrão	Variâncias	T	DF	Prob>T
LPDG	35	24,17	1,05	Igual	1,4702	57,2	0,1470
LGO	27	21,89	1,14	Desigual	1,4618	60,0	0,1490

F	DF	Prob>F
1,09	34,26	0,8273

Análise 313. Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e a inseminação artificial, em horas, de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado.

Tratamento	N	Média	Erro Padrão	Variâncias	T	DF	Prob>T
LPDG	36	18,09	0,23	Igual	0,5675	63,2	0,5724
LGO	30	17,91	0,23	Desigual	0,5638	64,0	0,5749

F	DF	Prob>F
1,15	35,29	0,6972

Análise 314. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
465,0000	-0,2049	0,8377*
*p>0,05		

Análise 315. Comparação do número de inseminações/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado, do jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
66,0000	-0,7119	0,4765*
*p>0,05		

Análise 316. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado, do jumento 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
8,5000	-0,6742	0,5002*
*p>0,05		

Análise 317. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado do jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
5,0000	-0,4082	0,6831*
*p>0,05		

Análise 318. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado do jumento 4.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
6,0000	0	1,0000*
*p>0,05		

Análise 319. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado do jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
25,0000	-0,9634	0,3354*

*p>0,05

Análise 320. Comparação da taxa de gestação/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado, independentemente do jumento utilizado.

Frequência	LPDG	LGO	Total
Gestantes	13	1	14
Não gestantes	10	20	30
Total	23	21	44

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	13,556	1	0,001

Análise 321. Comparação da taxa de gestação/ciclo, de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG e resfriado, entre jumentos.

Frequência	1	2	3	4	5	Total
Gestantes	6	3	1	1	2	13
Não gestantes	3	0	2	2	3	10
Total	9	3	3	3	5	23

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	4,553	4	0,336

Análise 322. Comparação da taxa de gestação/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído no diluidore LGO, e resfriado, entre jumentos.

Frequência	1	2	3	4	5	Total
Gestantes	1	0	0	0	0	1
Não gestantes	7	3	2	2	6	20
Total	8	3	2	2	6	21

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	1,706	4	0,790

7.2.2.3. Análises referentes à Tabela 23.

Análise 323. Comparação da idade das éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, entre jumentos, independentemente do tratamento.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	9	6,3370	1,5842	0,18	0,9493
Erro	34	350,5494	8,9884		
Total	43	356,8864			

Coefficiente de Variação: 28,99

Análise de Variância

Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	6,3370	1,5842	0,18	0,9493*

*p>0,05

Teste estatístico	Agrupamento pelo teste				
	Jumento 1	Jumento 2	Jumento 3	Jumento 4	Jumento 5
SNK (p<0,05)	a	a	a	a	a

Análise 324. Comparação do volume de sêmen/dose inseminante de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, entre os jumentos, independentemente do tratamento.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	4	2,5412	0,6353	6,62	0,0002
Erro	61	5,8504	0,0959		
Total	65	8,3915			

Coefficiente de Variação: 37,35

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	2,5412	0,6353	6,62	0,0002*

*p<0,05

Teste estatístico	Agrupamento pelo teste				
	Jumento 1	Jumento 2	Jumento 3	Jumento 4	Jumento 5
NK (p<0,05)	b	ab	b	ab	a

Análise 325. Comparação do volume de diluidor/dose inseminante de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, entre jumentos, independentemente do tratamento.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	4	2,5412	0,6353	6,62	0,0002
Erro	61	5,8504	0,0959		
Total	65	8,3915			

Coefficiente de Variação: 1,4628

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	2,5412	0,6253	6,62	0,0002*

*p<0,05

Teste estatístico	Agrupamento pelo teste				

	Jumento 1	Jumento 2	Jumento 3	Jumento 4	Jumento 5
SNK ($p < 0,05$)	a	ab	a	ab	b

Análise 326. Comparação do número de espermatozoides/dose inseminante de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, entre jumentos, independentemente do tratamento.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	4	156,3625	39,0906	5,02	0,0015
Erro	61	474,8785	7,7849		
Total	65	631,2409			
Coeficiente de Variação: 0,70					

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	156,3625	39,0906	5,02	0,0015*
* $p < 0,05$					

Agrupamento pelo teste					
Teste estatístico	Jumento 1	Jumento 2	Jumento 3	Jumento 4	Jumento 5
SNK ($p < 0,05$)	ab	abc	c	bc	a

Análise 327. Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e a sua pré-diluição, em minutos, de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, entre jumentos, independentemente do tratamento.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	4	9,3159	2,3290	2,08	0,0949
Erro	61	68,4417	1,1220		
Total	65	77,7576			
Coeficiente de Variação: 34,61					

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	9,3159	2,3290	2,08	0,0949*
* $p > 0,05$					

Agrupamento pelo teste					
Teste estatístico	Jumento 1	Jumento 2	Jumento 3	Jumento 4	Jumento 5
SNK ($p < 0,05$)	ab	ab	ab	b	a

Análise 328. Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e a sua diluição, em minutos, de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, entre jumentos, independentemente do tratamento.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	4	922,4623	230,6156	10,30	0,0001
Erro	56	1253,8000	22,3893		
Total	60	2176,2623			
Coeficiente de Variação: 25,89					

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	922,4623	230,6156	10,30	0,0001*

*p<0,05

Agrupamento pelo teste					
Teste estatístico	Jumento 1	Jumento 2	Jumento 3	Jumento 4	Jumento 5
SNK (p<0,05)	b	a	b	a	b

Análise 329. Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e o seu resfriamento, em minutos, de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, entre jumentos, independentemente do tratamento.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	4	1075,0651	268,7663	12,41	0,0001
Erro	57	1233,9833	21,6488		
Total	61	2309,0484			
Coeficiente de Variação: 20,07					

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	1075,0651	268,7663	12,41	0,0001*

*p<0,05

Agrupamento pelo teste					
Teste estatístico	Jumento 1	Jumento 2	Jumento 3	Jumento 4	Jumento 5
SNK (p<0,05)	b	a	b	a	b

Análise 330. Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e a inseminação artificial, em horas, de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, entre jumentos, independentemente do tratamento.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	4	30,8048	7,7012	5,60	0,0007
Erro	61	83,8816	1,3751		

Total	65	114,6864

Coefficiente de Variação: 6,51

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	30,8048	7,7012	5,60	0,0007*

*p<0,05

Teste estatístico	Agrupamento pelo teste				
	Jumento 1	Jumento 2	Jumento 3	Jumento 4	Jumento 5
SNK (p<0,05)	a	a	a	b	a

Análise 331. Comparação da taxa de gestação/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, entre jumentos, independentemente do tratamento.

Frequência	Jumento 1	Jumento 2	Jumento 3	Jumento 4	Jumento 5	Total
Gestantes	7	3	1	1	2	14
Não gestantes	10	3	4	4	9	30
Total	17	6	5	5	11	44

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	3,187	4	0,527

Análise 332. Comparação da idade das éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado, após agrupamento em duas faixas etárias – até 12,5 anos e maior ou igual a 13 anos.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	1	196,4775	196,4775	51,44	0,0001
Erro	42	160,4089	3,8193		
Total	43	356,8864			

Coefficiente de Variação: 18,90

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Idade	1	196,4775	196,4775	51,44	0,0001*

*p<0,05

Teste estatístico	Agrupamento pelo teste	
	Até 12,5 anos	≥13 anos
SNK (p<0,05)	b	a

Análise 333. Efeito da idade sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado.

Frequência	Até 12,5	≥13 anos	Total
Gestantes	9	5	14
Não gestantes	23	7	30
Total	32	12	44

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	0,738	1	0,390

Análise 334. Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e a última inseminação artificial, após o agrupamento em intervalos até 18 horas e maior que 18 horas.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	1	53,9906	53,9906	107,53	0,0001
Erro	42	21,0884	0,5021		
Total	43	75,0790			

Coeficiente de Variação: 3,99

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Intervalo coleta – IA	1	53,9906	53,9906	107,53	0,0001*

*p<0,05

Teste estatístico	Agrupamento pelo teste	
	Até 18 horas	>18 horas
SNK (p<0,05)	b	a

Análise 335. Efeito do intervalo entre a coleta do sêmen e a inseminação artificial sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado.

Frequência	Até 18 horas	>18 horas	Total
Gestantes	6	8	14
Não gestantes	14	16	30
Total	20	24	44

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	0,056	1	0,813

Análise 336. Efeito do número de inseminações/ciclo sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado, após o agrupamento em 1 IA/ciclo ou mais de 1 IA/ciclo.

Frequência	1 IA	>1 IA	Total
Gestantes	9	5	14
Não gestantes	22	8	30

Total	31	13	44

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	0,370	1	0,540

Análise 337. Efeito do número de inseminações/ciclo sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado.

Frequência	1 IA	2 IA	3 IA	4 IA	5 IA	6 IA
Gestantes	9	1	1	2	1	14
Não gestantes	22	7	1	0	0	30
Total	31	8	2	2	1	44

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	8,220	4	0,084

Análise 338. Efeito da categoria reprodutiva sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado

Frequência	Solteira	“Cio do Potro”	Parida	Potra	Total
Gestantes	7	5	2	0	14
Não gestantes	13	7	8	2	30
Total	20	12	10	2	44

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	2,207	3	0,531

Análise 339. Efeito do intervalo entre a inseminação e a ovulação sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído nos diluidores LPDG ou LGO, e resfriado.

Frequência	24h pré	48h pré	48h pré e pós	72h pré	Pós-ovulação	Total
Gestantes	5	8	0	1	0	14
Não gestantes	14	12	1	0	3	30
Total	19	20	1	1	3	44

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	4,892	4	0,299

7.3. Análises estatísticas referentes ao Experimento III. Efeito da concentração espermática por dose inseminante e do resfriamento do sêmen sobre as características físicas do sêmen de jumentos e sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas.

7.3.1. Análises estatísticas referentes ao Experimento IIIa. Efeito da concentração espermática por dose inseminante sobre as características físicas do sêmen de jumentos, avaliadas a diferentes períodos de estocagem em contêiner proposto por Palhares (1997)

7.3.1.1. Análises estatísticas referentes à Tabela 24.

Análise 340. Comparação do número de montas/ ejaculado, entre os jumentos.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	4	1,5157	0,3789	1,75	0,1502
Erro	66	14,3153	0,2169		
Total	70	15,8310			
Coeficiente de Variação: 38,45					

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	1,5157	0,3789	1,75	0,1502*
*p>0,05					

Análise 341. Comparação do volume de sêmen da fração rica do ejaculado, entre jumentos.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	4	11973,5452	2993,3863	47,19	0,0001
Erro	67	4249,8859	63,4311		
Total	71	16223,4311			
Coeficiente de Variação: 36,02					

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	11973,5452	2993,3863	47,19	0,0001*
*p<0,05					

Agrupamento pelo teste					
Teste estatístico	Jumento 1	Jumento 2	Jumento 3	Jumento 4	Jumento 5
SNK (p<0,05)	c	a	d	b	d

Análise 342. Comparação da motilidade espermática do sêmen *in natura*, entre os jumentos.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	4	0,0272	0,0068	1,88	0,1242
Erro	66	0,2388	0,0036		
Total	70	0,2660			
Coeficiente de Variação: 5,32					

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	0,0272	0,0068	1,88	0,1242*
*p>0,05					

Análise 343. Comparação da motilidade espermática após a pré-diluição, entre os jumentos.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	4	0,0484	0,0121	3,93	0,0063
Erro	67	0,2060	0,0031		
Total	71	0,2544			
Coeficiente de Variação: 36,02					

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	0,0484	0,0121	3,93	0,0063*
*p<0,05					

Agrupamento pelo teste					
Teste estatístico	Jumento 1	Jumento 2	Jumento 3	Jumento 4	Jumento 5
SNK (p<0,05)	a	a	ab	ab	b

Análise 344. Comparação do vigor espermático do sêmen *in natura*, entre os jumentos.

Teste Kruskal-Wallis		
CHISQ	DF	Prob> CHISQ
9,2863	4	0,0543*
*p>0,05		

Análise 345. Comparação do vigor espermático do sêmen *in natura*, entre os jumentos 1 e 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
170,500	0,2628	0,7927*
*p>0,05		

Análise 346. Comparação do vigor espermático do sêmen *in natura*, entre os jumentos 1 e 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
351,000	0,6105	0,5415*
*p>0,05		

Análise 347. Comparação do vigor espermático do sêmen *in natura*, entre os jumentos 1 e 4.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
107,000	-2,0565	0,0397*
*p<0,05		

Análise 348. Comparação do vigor espermático do sêmen *in natura*, entre os jumentos 1 e 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
172,000	-2,5191	0,0118*
*p>0,05		

Análise 349. Comparação do vigor espermático do sêmen *in natura*, entre os jumentos 2 e 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
180,0000	0,7008	0,4834*
*p>0,05		

Análise 350. Comparação do vigor espermático do sêmen *in natura*, entre os jumentos 2 e 4.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
85,5000	-1,8465	0,0648*
*p>0,05		

Análise 351. Comparação do vigor espermático do sêmen *in natura*, entre os jumentos 2 e 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
180,500	2,2116	0,0270*
*p<0,05		

Análise 352. Comparação do vigor espermático do sêmen *in natura*, entre os jumentos 3 e 4.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
122,000	-1,1430	0,2530*
*p>0,05		

Análise 353. Comparação do vigor espermático do sêmen *in natura*, entre os jumentos 3 e 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
195,000	-1,4342	0,1515
*p>0,05		

Análise 354. Comparação do vigor espermático do sêmen *in natura*, entre os jumentos 4 e 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
127,000	0,0959	0,9236*
*p>0,05		

Análise 355. Comparação do número de espermatozoides/mL de sêmen, entre os jumentos.

Análise de Variância

Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	4	2671900,1443	667975,0361	5,35	0,0009
Erro	67	8373099,8557	124971,6396		
Total	71	11045000,0000			
Coefficiente de Variação: 37,94					

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	2671900,1443	667975,0361	5,35	0,0009*
*p<0,05					

Agrupamento pelo teste					
Teste estatístico	Jumento 1	Jumento 2	Jumento 3	Jumento 4	Jumento 5
SNK (p<0,05)	ab	b	a	b	b

Análise 356. Comparação do número de espermatozoides móveis/mL de sêmen, entre os jumentos.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	4	1882703,6232	470675,9058	5,32	0,0009
Erro	67	5927634,3768	88472,1549		
Total	71	7810338,0000			
Coefficiente de Variação: 39,95					

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	1882703,6232	470675,9058	5,32	0,0009*
*p<0,05					

Agrupamento pelo teste					
Teste estatístico	Jumento 1	Jumento 2	Jumento 3	Jumento 4	Jumento 5
SNK (p<0,05)	ab	b	a	b	b

Análise 357. Comparação do número total de espermatozoides/ejaculado, entre os jumentos.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	4	5780838477,5167	1445209619,3791	18,50	0,0001
Erro	67	5232762867,9834	78100938,3281		
Total	71	11013601345,5000			
Coefficiente de Variação: 48,34					

Análise de Variância

Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	5780838477,5167	1445209619,3791	18,50	0,0001*
*p<0,05					

Teste estatístico	Agrupamento pelo teste				
	Jumento 1	Jumento 2	Jumento 3	Jumento 4	Jumento 5
SNK (p<0,05)	bc	a	cd	b	d

Análise 358. Comparação do número total de espermatozóides móveis/ejaculado, entre os jumentos.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	4	3964137480,3838	99103437,0959	20,17	0,0001
Erro	67	3292722740,4844	49145115,5296		
Total	71	7256860220,8682			
Coeficiente de Variação: 47,95					

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	3964137480,3838	99103437,0959	20,17	0,0001*
*p<0,05					

Teste estatístico	Agrupamento pelo teste				
	Jumento 1	Jumento 2	Jumento 3	Jumento 4	Jumento 5
SNK (p<0,05)	b	a	c	b	c

Análise 359. Comparação do volume de sêmen/dose inseminante, entre jumentos e tratamentos.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	9	27,2622	3,0291	8,59	0,0001
Erro	134	47,2409	0,3525		
Total	143	74,5031			
Coeficiente de Variação: 58,99					

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	9,9452	2,4863	7,05	0,0001*
Tratamento	1	17,1991	17,1991	48,79	0,0001*
Tratamento x Jumento	4	1,1097	0,2774	0,79	0,5356
*p<0,05					

Teste estatístico	Agrupamento pelo teste				

	Jumento 1	Jumento 2	Jumento 3	Jumento 4	Jumento 5
SNK (p<0,05)	bc	ab	c	a	ab

Análise 360. Comparação do volume de diluidor/dose inseminante, entre jumentos e tratamentos.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	9	27,2622	3,0291	8,59	0,0001
Erro	134	47,2409	0,3535		
Total	143	74,5031			
Coefficiente de Variação: 2,83					

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	9,9452	2,4863	7,05	0,0001*
Tratamento	1	17,1991	17,1991	48,79	0,0001*
Tratamento x Jumento	4	1,1097	0,2774	0,79	0,5356
*p<0,05					

Agrupamento pelo teste					
Teste estatístico	Jumento 1	Jumento 2	Jumento 3	Jumento 4	Jumento 5
SNK (p<0,05)	ab	bc	a	c	bc

Análise 361. Comparação do número de doses inseminantes produzidas por ejaculado, entre jumentos e tratamentos.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	9	43216,2782	4801,8087	25,00	0,0001
Erro	134	25738,6714	192,0796		
Total	143	68954,9495			
Coefficiente de Variação: 50,53					

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	28026,6879	7006,6720	36,48	0,0001*
Tratamento	1	13141,1737	13141,1737	68,42	0,0001*
Tratamento x Jumento	4	3139,9544	784,9886	4,09	0,0037*
*p<0,05					

Agrupamento pelo teste					
Teste estatístico	Jumento 1	Jumento 2	Jumento 3	Jumento 4	Jumento 5
SNK (p<0,05)					
400	b	a	c	b	cd

800	cd	b	cd	cd	d

7.3.1.2. Análises estatísticas referentes à Tabela 25.

Análise 362. Efeito do jumento e da concentração espermática/dose inseminante sobre a motilidade espermática do sêmen fracionado de jumentos, avaliados a diferentes períodos de armazenamento.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	49	12,4026	0,2531	42,41	0,0001
Erro	633	3,7782	0,0060		
Total	682	16,1808			
Coeficiente de Variação: 7,70					

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Tratamento x Jumento x Período	49	12,4026	0,2531	42,41	0,0001*
*p<0,01					

Agrupamento pelo teste – SNK (p<0,05)										
Período de Avaliação \ Jumento	Concentração espermática/dose inseminante									
	400 milhões de espermatozoides					800 milhões de espermatozoides				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Fresco	a	a	ab	abc	abc	a	a	ab	abc	abc
PD	ab	ab	abc	abcd	abcdefg	ab	ab	abc	abcd	abcdefg
Pré- IA	abcdefgh	abc	cdefgh	abcdef	cdefgh	cdefgh	abcde	fghi	abcdefgh	cdefgh
24 horas	defghi	abcdef	ghi	bcdefgh	efghi	hi	cdefgh	ij	cdefgh	hi
48 horas	mn	jk	klmn	klmn	klm	n	jkl	mn	klmn	lmn

7.3.1.3. Análises estatísticas referentes à Tabela 26.

Análise 363. Efeito do jumento e da concentração espermática/dose inseminante sobre o vigor espermático do sêmen fracionado de jumentos da raça Pêga, avaliado a diferentes períodos de armazenamento.

Teste Kruskal-Wallis		
CHISQ	DF	Prob> CHISQ
506,61	49	0,0001*
*p<0,05		

Análise 364. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os períodos fresco e após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
85,5000	-1,8465	0,0648

*p>0,05

Análise 365. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e pré-inseminação.

Teste Wilcoxon

S	Z	Prob> Z
186,000	3,9957	0,0001*

*p<0,05

Análise 366. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 24 horas.

Teste Wilcoxon

S	Z	Prob> Z
66,5000	-4,0115	0,0001*

*p<0,05

Análise 367. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 48 horas.

Teste Wilcoxon

S	Z	Prob> Z
66,0000	-4,1386	0,0001*

*p<0,05

Análise 368. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e pré-inseminação.

Teste Wilcoxon

S	Z	Prob> Z
152,0000	3,0221	0,0025*

*p<0,05

Análise 369. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e 24 horas.

Teste Wilcoxon

S	Z	Prob> Z
154,500	3,1876	0,0014*

*p<0,05

Análise 370. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e 48 horas.

Teste Wilcoxon

S	Z	Prob> Z
158,500	3,6101	0,0003*

*p<0,05

Análise 371. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 24 horas.

Teste Wilcoxon

S	Z	Prob> Z
113,0000	-0,9713	0,3314*

*p>0,05

Análise 372. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 48 horas.

Teste Wilcoxon

S	Z	Prob> Z
86,0000	-2,9230	0,0035*

*p<0,05

Análise 373. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação 24 e 48 horas.

Teste Wilcoxon

S	Z	Prob> Z
155,0000	2,1273	0,0334*

*p<0,05

Análise 374. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon

S	Z	Prob> Z
85,5000	-1,8465	0,0648*

*p>0,05

Análise 375. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e pré-inseminação.

Teste Wilcoxon

S	Z	Prob> Z
183,5000	3,8648	0,0001*

*p<0,05

Análise 376. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 24 horas.

Teste Wilcoxon

S	Z	Prob> Z
55,5000	-3,9365	0,0001*

*p<0,05

Análise 377. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
55,0000	-3,9268	0,0001*

*p<0,05

Análise 378. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
143,5000	2,4865	0,0129*

*p<0,05

Análise 379. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
65,5000	-3,0532	0,0023*

*p<0,05

Análise 380. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
60,5000	-3,4078	0,0007*

*p<0,05

Análise 381. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
76,5000	-2,5949	0,0095*

*p<0,05

Análise 382. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
61,0000	-3,5718	0,0004*

*p<0,05

Análise 383. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação 24 e 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
133,5000	2,3179	0,0205*
*p<0,05		

Análise 384. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
329,0000	-0,1245	0,9009*
*p>0,05		

Análise 385. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
479,0000	4,7216	0,0001*
*p<0,05		

Análise 386. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
142,0000	-4,8460	0,0001*
*p<0,05		

Análise 387. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
153,0000	-5,2591	0,0001*
*p<0,05		

Análise 388. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
485,0000	4,9649	0,0001*
*p<0,05		

Análise 389. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
138,0000	-5,0394	0,0001*
*p<0,05		

Análise 390. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
153,0000	-5,3254	0,0001*
*p<0,05		

Análise 391. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
237,5000	-1,5327	0,1254*
*p>0,05		

Análise 392. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
181,0000	-4,4210	0,0001*
*p<0,05		

Análise 393. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação 24 e 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
349,5000	3,2354	0,0012*
*p<0,05		

Análise 394. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
329,000	-0,1245	0,9009
*p>0,05		

Análise 395. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
477,5000	4,6974	0,0001*
*p<0,05		

Análise 396. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
111,0000	-4,6610	0,0001*
*p<0,05		

Análise 397. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
120,0000	-5,1262	0,0001*
*p<0,05		

Análise 398. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
484,500	4,9692	0,0001*
*p<0,05		

Análise 399. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
107,000	-4,8787	0,0001*
*p<0,05		

Análise 400. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
120,000	-5,2051	0,0001*
*p<0,05		

Análise 401. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
204,000	-1,1189	0,2632*
*p<0,05		

Análise 402. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
127,000	-4,9224	0,0001*
*p<0,05		

Análise 403. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação 24 e 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
301,000	4,3903	0,0001*
*p<0,05		

Análise 404. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
295,500	-1,2687	0,2045*
*p>0,05		

Análise 405. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
492,0000	5,1234	0,0001*
*p<0,05		

Análise 406. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
154,000	-5,1324	0,0001*
*p<0,05		

Análise 407. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
171,000	-5,3147	0,0001*
*p<0,05		

Análise 408. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
468,000	4,3493	0,0001*
*p<0,05		

Análise 409. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
169,500	-4,5948	0,0001*
*p<0,05		

Análise 410. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
182,500	-4,9321	0,0001*
*p<0,05		

Análise 411. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
261,000	-1,5601	0,1187*
*p>0,05		

Análise 412. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
252,500	-2,7395	0,0062*
*p<0,05		

Análise 413. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação 24 e 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z

340,500	1,3216	0,1863*
*p>0,05		

Análise 414. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
295,500	-1,2687	0,2045*
*p>0,05		

Análise 415. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
481,000	4,8179	0,0001*
*p<0,05		

Análise 416. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
136,500	-5,0755	0,0001*
*p<0,05		

Análise 417. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
136,000	-5,1053	0,0001*
*p<0,05		

Análise 418. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
450,500	3,8115	0,0001*
*p<0,05		

Análise 419. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z

151,000	-4,5342	0,0001*
*p<0,05		

Análise 420. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
146,000	-4,7311	0,0001*
*p<0,05		

Análise 421. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
201,500	-2,9457	0,0032*
*p<0,05		

Análise 422. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
168,500	-4,0565	0,0001*
*p<0,05		

Análise 423. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação 24 e 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
309,500	1,9058	0,0567*
*p>0,05		

Análise 424. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação fresco e após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
113,000	-0,9650	0,3346*
*p>0,05		

Análise 425. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
182,000	3,7519	0,0002*

*p<0,05

Análise 426. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 24 horas.

Teste Wilcoxon

S	Z	Prob> Z
36,0000	-3,7058	0,0002*

*p<0,05

Análise 427. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação após a pré-diluição e 24 horas.

Teste Wilcoxon

S	Z	Prob> Z
45,0000	-3,8232	0,0001*

*p<0,05

Análise 428. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen a fresco e pré-inseminação.

Teste Wilcoxon

S	Z	Prob> Z
176,000	3,3673	0,0008*

*p<0,05

Análise 429. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen a fresco e 24 horas.

Teste Wilcoxon

S	Z	Prob> Z
37,5000	-3,5713	0,0004*

*p<0,05

Análise 430. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen a fresco e às 48 horas.

Teste Wilcoxon

S	Z	Prob> Z
45,5000	-3,7708	0,0002*

*p<0,05

Análise 431. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 24 horas.

Teste Wilcoxon

S	Z	Prob> Z
60,0000	-1,7519	0,0798*
*p>0,05		

Análise 432. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação pré-inseminação e 48 horas.

Teste Wilcoxon

S	Z	Prob> Z
55.5000	-3,0440	0,0023*
*p<0,05		

Análise 433. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação 24 e 48 horas.

Teste Wilcoxon

S	Z	Prob> Z
90.5000	1,8312	0,0671*
*p>0,05		

Análise 434. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen a fresco e após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon

S	Z	Prob> Z
113,000	-0,9650	0,3346*
*p>0,05		

Análise 435. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen após a pré-diluição e às 24 horas.

Teste Wilcoxon

S	Z	Prob> Z
55,0000	-3,9606	0,0001*
*p<0,05		

Análise 436. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen após a pré-diluição e às 48 horas.

Teste Wilcoxon

S	Z	Prob> Z
66,0000	-4,0561	0,0001*
*p<0,05		

Análise 437. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen a fresco e pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
172,000	3,1245	0,0018*
*p<0,05		

Análise 438. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen a fresco e às 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
58,0000	-3,7569	0,0002*
*p<0,05		

Análise 439. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen a fresco e às 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
66,5000	-4,0115	0,0001*
*p<0,05		

Análise 440. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen pré-inseminação e às 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
88,0000	-1,6941	0,0903*
*p>0,05		

Análise 441. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen pré-inseminação e às 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
75,0000	-3,4790	0,0005*
*p<0,05		

Análise 442. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen às 24 e 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
145,000	2,5739	0,0101*
*p<0,05		

Análise 443. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen a fresco e após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
197,000	-0,2685	0,7883*
*p>0,05		

Análise 444. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen após a pré-diluição e pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
267,500	3,0892	0,0020*
*p<0,05		

Análise 445. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen após a pré-diluição e às 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
90,0000	-3,8193	0,0001*
*p<0,05		

Análise 446. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen após a pré-diluição e às 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
97,0000	-4,1997	0,0001*
*p<0,05		

Análise 447. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen a fresco e pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
268,500	3,1285	0,0018*
*p<0,05		

Análise 448. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen a fresco e às 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z

91,0000	-3,7465	0,0002*
*p<0,05		

Análise 449. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen a fresco e às 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
100,000	-4,0597	0,0001*
*p<0,05		

Análise 450. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen pré-inseminação e às 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
125,000	-2,2236	0,0262*
*p<0,05		

Análise 451. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen pré-inseminação e às 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
118,000	-3,4126	0,0006*
*p<0,05		

Análise 452. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen às 24 e 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
183,000	1,6333	0,1024*
*p>0,05		

Análise 453. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen a fresco e após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
197,000	-0,2685	0,7883*
*p>0,05		

Análise 454. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen após a pré-diluição e pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
139,000	-2,1638	0,0305*
*p<0,05		

Análise 455. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen após a pré-diluição e às 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
79,0000	-2,7744	0,0055*
*p<0,05		

Análise 456. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen após a pré-diluição e às 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
63,0000	-3,6812	0,0002*
*p<0,05		

Análise 457. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen a fresco e pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
138,000	-2,2572	0,0240*
*p<0,05		

Análise 458. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen a fresco e às 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
77,0000	-2,9332	0,0034*
*p<0,05		

Análise 459. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen a fresco e às 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
65,0000	-3,5918	0,0003*
*p<0,05		

Análise 460. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen pré-inseminação e às 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
103,000	-1,1232	0,2614*
*p>0,05		

Análise 461. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen pré-inseminação e às 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
75,0000	-2,8882	0,0039*
*p<0,05		

Análise 462. Comparação do vigor espermático do sêmen fracionado do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, entre os períodos de avaliação do sêmen às 24 e 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
133,000	2,2107	0,0271*
*p<0,05		

Análise 463. Comparação do vigor espermático do jumento 2, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, para o período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
126,500	0	1,0000*
*p>0,05		

Análise 464. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 2, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
170,500	0,2628	0,7927*
*p>0,05		

Análise 465. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
170,500	0,2628	0,7927*
*p>0,05		

Análise 466. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
180,000	0,7008	0,4834*
*p>0,05		

Análise 467. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
180,000	0,7008	0,4834*
*p>0,05		

Análise 468. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
85,5000	-1,8465	0,0648*
*p>0,05		

Análise 469. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
85,5000	-1,8465	0,0648*
*p>0,05		

Análise 470. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
180,500	2,2116	0,0270*
*p<0,05		

Análise 471. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
180,500	2,2116	0,0270*
*p<0,05		

Análise 472. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
170,500	0,2628	0,7927*
*p>0,05		

Análise 473. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 2, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
170,500	0,2628	0,7927*
*p>0,05		

Análise 474. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
180,000	0,7008	0,4834*
*p>0,05		

Análise 475. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 3, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
180,000	0,7008	0,4834*
*p>0,05		

Análise 476. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
85,5000	-1,8465	0,0648*
*p>0,05		

Análise 477. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 4, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
85,5000	-1,8465	0,0648*
*p>0,05		

Análise 478. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
180,500	2,2116	0,0270*
*p<0,05		

Análise 479. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 5, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
180,500	2,2116	0,0270*
*p<0,05		

Análise 480. Comparação do vigor espermático do jumento 1, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, para o período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
333,000	0	1,0000*
*p>0,05		

Análise 481. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 3, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
351,000	0,6105	0,5415*
*p>0,05		

Análise 482. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
351,000	0,6105	0,5415*
*p>0,05		

Análise 483. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 4, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
107,000	-2,0565	0,0397*
*p<0,05		

Análise 484. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 5, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
172,000	-2,5191	0,0118*
*p<0,05		

Análise 485. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
172,000	-2,5191	0,0118*
*p<0,05		

Análise 486. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
107,000	-2,0565	0,0397*
*p>0,05		

Análise 487. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
315,000	-0,6105	0,5415*
*p>0,05		

Análise 488. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 3, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
351,000	0,6105	0,5415*
*p>0,05		

Análise 489. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
172,000	-2,5191	0,0118*
*p<0,05		

Análise 490. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 5, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
172,000	-2,5191	0,0118*
*p<0,05		

Análise 491. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
107,000	-2,0565	0,0397*
*p<0,05		

Análise 492. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 4, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
107,000	-2,0565	0,0397*
*p<0,05		

Análise 493. Comparação do vigor espermático do jumento 3, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, para o período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
333,000	0	1,0000*
*p>0,05		

Análise 494. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 3 e 5, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
195,000	-1,4342	0,1515*
*p>0,05		

Análise 495. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
195,000	-1,4342	0,1515*
*p>0,05		

Análise 496. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 3 e 4, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
122,000	-1,1430	0,2530*
*p>0,05		

Análise 497. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
122,000	-1,1430	0,2530*
*p>0,05		

Análise 498. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
195,000	-1,4342	0,1515*
*p>0,05		

Análise 499. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 3 e 5, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
195,000	-1,4342	0,1515*
*p>0,05		

Análise 500. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
122,000	-1,1430	0,2530*
*p>0,05		

Análise 501. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 3 e 4, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
122,000	-1,1430	0,2530*
*p>0,05		

Análise 502. Comparação do vigor espermático do jumento 5, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, para o período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
203,000	0	1,0000*
*p>0,05		

Análise 503. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 4 e 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
127,000	0,0959	0,9236*
*p>0,05		

Análise 504. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
127,000	0,0959	0,9236*
*p>0,05		

Análise 505. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
127,000	0,0959	0,9236*
*p>0,05		

Análise 506. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 4 e 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
127,000	0,0959	0,9236*
*p>0,05		

Análise 507. Comparação do vigor espermático do jumento 4, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, para o período de avaliação do sêmen a fresco.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
105,000	0	1,0000*
*p>0,05		

Análise 508. Comparação do vigor espermático do jumento 2, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
126,500	0	1,0000*
*p>0,05		

Análise 509. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 3, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
177,500	0,6123	0,5403*
*p>0,05		

Análise 510. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
177,500	0,6123	0,5403*
*p>0,05		

Análise 511. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 4, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
140,000	0,9650	0,3346*
*p>0,05		

Análise 512. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
140,000	0,9650	0,3346*
*p>0,05		

Análise 513. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 2, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
188,000	1,1170	0,2640*
*p>0,05		

Análise 514. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
188,000	1,1170	0,2640*
*p>0,05		

Análise 515. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 5, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
183,500	2,3262	0,0200*
*p<0,05		

Análise 516. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
183,500	2,3262	0,020*
*p<0,05		

Análise 517. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
177,500	0,6123	0,5403*
*p>0,05		

Análise 518. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 3, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
177,500	0,6123	0,5403*
*p>0,05		

Análise 519. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
113,000	-0,9650	0,3346*
*p>0,05		

Análise 520. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
140,000	0,9650	0,3346*
*p>0,05		

Análise 521. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
188,000	1,1170	0,2640*
*p>0,05		

Análise 522. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
188,000	1,1170	0,2640*
*p>0,05		

Análise 523. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
183,500	2,3262	0,0200*
*p<0,05		

Análise 524. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
183,500	2,3262	0,0200*
*p<0,05		

Análise 525. Comparação do vigor espermático do jumento 3, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
333,000	0	1,0000*
*p>0,05		

Análise 526. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 3 e 4, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
155,500	-0,4547	0,6493*
*p>0,05		

Análise 527. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
155,500	-0,4547	0,6493*
*p>0,05		

Análise 528. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 3, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
314,500	-0,6283	0,5298*
*p>0,05		

Análise 529. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
351,500	0,6283	0,5298*
*p>0,05		

Análise 530. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 3 e 5, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
176,500	-2,1961	0,0281*
*p<0,05		

Análise 531. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
176,500	-2,1961	0,0281*
*p<0,05		

Análise 532. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
155,500	-0,4547	0,6493*
*p>0,05		

Análise 533. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 3 e 4, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
155,500	-0,4547	0,6493*
*p>0,05		

Análise 534. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
314,500	-0,6283	0,5298*
*p>0,05		

Análise 535. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 3, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
314,500	-0,6283	0,5298*
*p>0,05		

Análise 536. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
176,500	-2,1961	0,0281*
*p<0,05		

Análise 537. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 3 e 5, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
176,500	-2,1961	0,0281*
*p>0,05		

Análise 538. Comparação do vigor espermático do jumento 4, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
126,500	0	1,0000*
*p>0,05		

Análise 539. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
167,500	0,0986	0,9215*
*p>0,05		

Análise 540. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
167,500	0,0986	0,9215*
*p>0,05		

Análise 541. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 4 e 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
171,000	1,5996	0,1097*
*p>0,05		

Análise 542. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
171,000	1,5996	0,1097*
*p>0,05		

Análise 543. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
167,500	0,0986	0,9215*
*p>0,05		

Análise 544. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 4, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
167,500	0,0986	0,9215*
*p>0,05		

Análise 545. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
171,000	1,5996	0,1097*
*p>0,05		

Análise 546. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 4 e 5, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
171,000	1,5996	0,1097*
*p>0,05		

Análise 547. Comparação do vigor espermático do jumento 1, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
333,000	0	1,0000*
*p>0,05		

Análise 548. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 5, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
189,500	-1,6485	0,0992*
*p>0,05		

Análise 549. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
189,500	-1,6485	0,0992*
*p>0,05		

Análise 550. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
189,500	-1,6485	0,0992*
*p>0,05		

Análise 551. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 5, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
189,500	-1,6485	0,0992*
*p>0,05		

Análise 552. Comparação do vigor espermático do jumento 5, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen após a pré-diluição.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
203,000	0	1,0000*
*p>0,05		

Análise 553. Comparação do vigor espermático do jumento 2, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
118,000	-0,5816	0,5609*
*p>0,05		

Análise 554. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 5, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
152,000	0,8934	0,3717*
*p>0,05		

Análise 555. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 4, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
148,000	1,5690	0,1167*
*p>0,05		

Análise 556. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 3, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
206,000	1,9511	0,0510*
*p>0,05		

Análise 557. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
210,500	2,1891	0,0286*
*p<0,05		

Análise 558. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
181,500	2,2590	0,0239*
*p<0,05		

Análise 559. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
216,500	2,4360	0,0148*
*p<0,05		

Análise 560. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
83,0000	-3,0066	0,0026*
*p<0,05		

Análise 561. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
227,000	2,9193	0,0035*
*p<0,05		

Análise 562. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
142,500	0,2875	0,7737*
*p>0,05		

Análise 563. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
139,000	0,9025	0,3668*
*p>0,05		

Análise 564. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
194,500	1,4083	0,1590*
*p>0,05		

Análise 565. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
198,500	1,6194	0,1054*
*p>0,05		

Análise 566. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 5, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
172,500	1,7479	0,0805*
*p>0,05		

Análise 567. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 2, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
206,000	1,9478	0,0514*
*p>0,05		

Análise 568. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
164,500	2,6580	0,0079*
*p<0,05		

Análise 569. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
217,500	2,4828	0,0130*
*p<0,05		

Análise 570. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 4 e 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
128,500	-0,5585	0,5765*
*p>0,05		

Análise 571. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 3 e 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
233,000	1,0535	0,2921*
*p>0,05		

Análise 572. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
237,500	1,2595	0,2078*
*p>0,05		

Análise 573. Comparação do vigor espermático do jumento 5, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
208,500	1,3731	0,1697*
*p>0,05		

Análise 574. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
246,500	1,6221	0,1048*
*p>0,05		

Análise 575. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
99,5000	-2,3241	0,0201*
*p<0,05		

Análise 576. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
260,500	2,2077	0,0273*
*p<0,05		

Análise 577. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 3 e 4, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
179,000	0,6699	0,5029*
*p>0,05		

Análise 578. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 4, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
182,500	0,8552	0,3924*
*p>0,05		

Análise 579. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
161,000	1,0880	0,2766*
*p>0,05		

Análise 580. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
192,000	1,3004	0,1935*
*p>0,05		

Análise 581. Comparação do vigor espermático do jumento 4, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
95,0000	-2,2654	0,0235*
*p<0,05		

Análise 582. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
205,000	1,9215	0,0547*
*p>0,05		

Análise 583. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 3, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
329,000	-0,1217	0,9031*
*p>0,05		

Análise 584. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
223,500	-0,2989	0,7650*
*p>0,05		

Análise 585. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
311,500	-0,7180	0,4728*

*p>0,05

Análise 586. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon

S	Z	Prob> Z
131,500	-1,6474	0,0995*

*p>0,05

Análise 587. Comparação do vigor espermático do jumento 3, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon

S	Z	Prob> Z
289,500	-1,4561	0,1454*

*p>0,05

Análise 588. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon

S	Z	Prob> Z
226,000	-0,1933	0,8467*

*p>0,05

Análise 589. Comparação do vigor espermático do jumento 1, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon

S	Z	Prob> Z
315,000	-0,6017	0,5474*

*p>0,05

Análise 590. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon

S	Z	Prob> Z
132,500	-1,6061	0,1083*

*p>0,05

Análise 591. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon

S	Z	Prob> Z

292,500	-1,3623	0,1731*
*p>0,05		

Análise 592. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 5, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
241,500	0,4197	0,6747*
*p>0,05		

Análise 593. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 4 e 5, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
119,500	-1,4792	0,1391*
*p>0,05		

Análise 594. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 3 e 5, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
259,500	1,1583	0,2468*
*p>0,05		

Análise 595. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 4, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
146,000	-0,9092	0,3633*
*p>0,05		

Análise 596. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 3, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
356,000	0,7572	0,4489*
*p>0,05		

Análise 597. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 3 e 4, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
161,500	-0,1455	0,8843*
*p>0,05		

Análise 598. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
109,500	0,3398	0,7340*
*p>0,05		

Análise 599. Comparação do vigor espermático do jumento 2, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
67,5000	-0,7862	0,4317*
*p>0,05		

Análise 600. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
146,000	1,3169	0,1879*
*p>0,05		

Análise 601. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
129,500	1,9904	0,0465*
*p<0,05		

Análise 602. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
146,500	2,2323	0,0256*
*p<0,05		

Análise 603. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
171,000	1,9876	0,0469*
*p<0,05		

Análise 604. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
141,000	2,2990	0,0215*
*p<0,05		

Análise 605. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 3, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
182,500	2,6651	0,0077*
*p<0,05		

Análise 606. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
191,500	2,7184	0,0066*
*p<0,05		

Análise 607. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
71,0000	-0,4400	0,6599*
*p>0,05		

Análise 608. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 5, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
140,000	0,9366	0,3490*
*p>0,05		

Análise 609. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 4 e 5, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
84,50000	-1,6848	0,0920*
*p>0,05		

Análise 610. Comparação do vigor espermático do jumento 5, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
142,000	1,9378	0,0526*
*p>0,05		

Análise 611. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
166,500	1,7326	0,0832*
*p>0,05		

Análise 612. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
137,500	2,0536	0,0400*
*p<0,05		

Análise 613. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 3 e 5, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
177,500	2,4089	0,0160*
*p<0,05		

Análise 614. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
187,500	2,5125	0,0120*
*p<0,05		

Análise 615. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
97,0000	0,3424	0,7321*
*p>0,05		

Análise 616. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
87,5000	1,1222	0,2618*
*p>0,05		

Análise 617. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
100,000	1,3629	0,1729*
*p>0,05		

Análise 618. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
119,500	1,2354	0,2167*
*p>0,05		

Análise 619. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
97,5000	1,5418	0,1231*
*p>0,05		

Análise 620. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
127,500	1,8337	0,0667*
*p>0,05		

Análise 621. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
136,500	2,0039	0,0451*
*p<0,05		

Análise 622. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 4, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
111,000	-0,9168	0,3593*
*p>0,05		

Análise 623. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
141,000	-1,2144	0,2246*
*p>0,05		

Análise 624. Comparação do vigor espermático do jumento 1, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
244,000	1,1786	0,2386*
*p>0,05		

Análise 625. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
118,000	-1,4960	0,1347*
*p>0,05		

Análise 626. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 3, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
257,000	1,8412	0,0656*
*p>0,05		

Análise 627. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
118,500	0,2413	0,8093*
*p>0,05		

Análise 628. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
142,500	0,3991	0,6898*
*p>0,05		

Análise 629. Comparação do vigor espermático do jumento 4, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
118,500	0,6548	0,5126*
*p>0,05		

Análise 630. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 3 e 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
150,000	0,8893	0,3738*
*p>0,05		

Análise 631. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
164,000	1,3026	0,1927*
*p>0,05		

Análise 632. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
178,500	0,2014	0,8404*
*p>0,05		

Análise 633. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 4 e 5, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
125,500	-0,4272	0,6692*
*p>0,05		

Análise 634. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
186,500	0,6460	0,5183*
*p>0,05		

Análise 635. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 3 e 5, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
203,500	1,1271	0,2597*
*p>0,05		

Análise 636. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 2, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
151,000	-0,1331	0,8941*
*p>0,05		

Análise 637. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
271,500	0,2868	0,7743*
*p>0,05		

Análise 638. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 3, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
291,500	0,7451	0,4562*
*p>0,05		

Análise 639. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
156,500	0,1119	0,9109*
*p>0,05		

Análise 640. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 3 e 4, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
172,000	0,6230	0,5333*
*p>0,05		

Análise 641. Comparação do vigor espermático do jumento 3, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação 24 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
287,000	0,5796	0,5622*
*p>0,05		

Análise 642. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 5, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
112,500	0,1573	0,8750*
*p>0,05		

Análise 643. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
85,5000	-0,3553	0,7223*
*p>0,05		

Análise 644. Comparação do vigor espermático do jumento 5, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
128,000	0,5169	0,6052*
*p>0,05		

Análise 645. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação do sêmen 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
167,500	1,2590	0,2080*
*p>0,05		

Análise 646. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 3 e 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
155,000	1,1731	0,2408*
*p>0,05		

Análise 647. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
128,500	1,5351	0,1248*
*p>0,05		

Análise 648. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 4 e 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
88,5000	-1,3245	0,1853*
*p>0,05		

Análise 649. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
183,000	2,6558	0,0079*
*p<0,05		

Análise 650. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 5, no tratamento 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, e no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
170,000	2,9340	0,0033*
*p<0,05		

Análise 651. Comparação do vigor espermático do jumento 2, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
91,5000	-0,2081	0,8352*
*p>0,05		

Análise 652. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
143,000	0,3231	0,7466*
*p>0,05		

Análise 653. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
185,000	1,0554	0,2912*
*p>0,05		

Análise 654. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 3, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
172,000	0,9933	0,3206*
*p>0,05		

Análise 655. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
109,000	-1,3699	0,1707*
*p>0,05		

Análise 656. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 4, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
94,0000	-1,2048	0,2283*
*p>0,05		

Análise 657. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 2, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
203,000	2,5479	0,0108*
*p<0,05		

Análise 658. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 2, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
189,000	2,8202	0,0048*
*p<0,05		

Análise 659. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 5, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
104,500	0,0365	0,9709*
*p>0,05		

Análise 660. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 3, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
135,500	0,5436	0,5867*
*p>0,05		

Análise 661. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
126,000	0,5406	0,5888*
*p>0,05		

Análise 662. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 2 e 4, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
104,000	0,8107	0,4175*
*p>0,05		

Análise 663. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
100,000	0,8349	0,4038*
*p>0,05		

Análise 664. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 2, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
148,500	1,7529	0,0796*
*p>0,05		

Análise 665. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 2, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
137,500	1,9240	0,0544*
*p>0,05		

Análise 666. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 3 e 5, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação do sêmen pré-inseminação.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
223,000	0,6813	0,4957*
*p>0,05		

Análise 667. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
208,500	0,6463	0,5181*
*p>0,05		

Análise 668. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 4 e 5, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
122,000	-1,0242	0,3057*
*p>0,05		

Análise 669. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
105,500	-0,9521	0,3410*
*p>0,05		

Análise 670. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 5, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
245,000	2,1653	0,0304*
*p<0,05		

Análise 671. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 5, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
229,500	2,3577	0,0184*
*p<0,05		

Análise 672. Comparação do vigor espermático do jumento 3, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
278,500	-0,0423	0,9663*
*p>0,05		

Análise 673. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 3 e 4, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
155,500	-0,5455	0,5854*
*p>0,05		

Análise 674. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
134,000	-0,5967	0,5507*
*p>0,05		

Análise 675. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 3, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
259,500	-2,0735	0,0381*
*p<0,05		

Análise 676. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 3, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
211,000	-2,3466	0,0189*
*p<0,05		

Análise 677. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
147,000	-0,4025	0,6873*
*p>0,05		

Análise 678. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 3 e 4, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
126,000	-0,5074	0,6119*
*p>0,05		

Análise 679. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 3, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
309,500	1,7077	0,0877*
*p>0,05		

Análise 680. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 3, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
204,500	-1,8967	0,0579*
*p>0,05		

Análise 681. Comparação do vigor espermático do jumento 4, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
107,500	-0,1694	0,8655*
*p>0,05		

Análise 682. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 4, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
180,000	1,4108	0,1583*
*p>0,05		

Análise 683. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
168,000	1,7778	0,0755*
*p>0,05		

Análise 684. Comparação do vigor espermático entre o sêmen do jumento 1, no tratamento 400 milhões de espermatozoides/dose inseminante, e o do jumento 4, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
150,500	0,6239	0,5327*
*p>0,05		

Análise 685. Comparação do vigor espermático entre o sêmen dos jumentos 1 e 4, no tratamento 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
140,500	0,7415	0,4584*
*p>0,05		

Análise 686. Comparação do vigor espermático do jumento 1, entre os tratamentos 400 e 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, no período de avaliação 48 horas.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
247,000	0	1,0000*
*p>0,05		

7.3.2. Análises estatísticas referentes ao Experimento IIb. Efeito da concentração espermática por dose inseminante sobre taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen asinino diluído, resfriado e estocado, em contêiner proposto por Palhares (1997).

Tabela 32. Parâmetros de controle e de resultados de éguas inseminadas com sêmen diluído e resfriado, considerando-se o efeito do jumento e da concentração espermática/dose inseminante utilizada.

Parâmetros Avaliados	Jumentos									
	1		2		3		4		5	
	400x10 ⁶	800x10 ⁶	400x10 ⁶	800x10 ⁶	400x10 ⁶	800x10 ⁶	400x10 ⁶	800x10 ⁶	400x10 ⁶	800x10 ⁶

Nº ciclos	15	15	5	5	7	6	6	5	8	7
Idade	11,70± 0,89	10,90± 0,89	10,90± 1,54	8,50± 1,54	10,14± 1,30	8,58±1,41	8,42± 1,41	12,10± 1,54	8,13± 1,22	10,50±1,30
Vol. sêmen (mL)	0,57± 0,10	1,07± 0,10	0,49± 0,16	1,65± 0,16	0,47± 0,14	1,23± 0,14	1,22± 0,17	2,27± 0,14	0,71± 0,12	1,69± 0,16
Vol. diluidor (mL)	21,43± 0,10	20,93± 0,10	21,51± 0,16	20,35± 0,16	21,53± 0,14	20,77± 0,14	20,78± 0,17	19,73± 0,14	21,29± 0,12	20,32± 0,16
Sptz móveis/dose (milhões de)	402,60±4,2 9 ^c	826,99±4,2 9 ^a	404,68±7,4 3 ^c	789,97±7,0 8 ^b	403,95±6,5 2 ^c	803,65±6,5 2 ^b	398,49±7,8 3 ^c	798,51±6,5 2 ^b	403,44±5,5 4 ^c	806,50±7,4 3 ^b
Coleta - pré (min)	2,83±0,13	2,73±0,13	3,40±0,23	3,27±0,22	2,62±0,20	2,77±0,20	3,33±0,25	3,54±0,20	2,44±0,17	2,50±0,23
Coleta - diluição (min)	13,80±0,76	15,10±0,76	14,80±1,31	12,55±1,25	16,18±1,25	16,83±1,20	18,33±1,38	18,62±1,15	14,00±0,98	15,40±1,31
Coleta - resfriamento (min)	17,60±0,72	18,43±0,72	17,90±1,24	15,45±1,18	19,08±1,09	19,62±1,09	20,78±1,31	22,62±1,09	17,50±0,92	18,80±1,24
Coleta - IA (h)	18,45±0,30	18,64±0,30	19,31±0,51	18,28±0,49	18,18±0,45	18,27±0,45	18,05±0,54	18,06±0,45	18,60±0,38	18,17±0,51
Nº IAs/ciclo	2,47±0,19 ^a	2,93±0,19 ^{ab} _c	2,00±0,33 ^{ab} _c	2,64±0,31 ^{ab} _c	1,92±0,29 ^{bc} _d	3,00±0,29 ^{ab} _c	1,56±0,35 ^d	1,85±0,29 ^{cd}	2,33±0,25 ^{ab}	1,60±0,33 ^d
Ciclos/gestação	1,88	1,88	2,50	2,50	3,50	2,00	2,00	2,50	4,00	2,33
Taxa de gestação (%)	53,33 (8/15)	53,33 (8/15)	40,00 (2/5)	40,00 (2/5)	28,57 (2/7)	50,00 (3/6)	50,00 (3/6)	40,00 (2/5)	25,00 (2/8)	42,86 (3/7)

^{a,b,c,d} Médias na linha seguidas por letras distintas, diferem (p<0,05).

7.3.2.1. Análises estatísticas referentes à Tabela 32.

Análise 687. Comparação da idade das éguas inseminadas com 400 ou 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, diluídos e resfriados, entre jumentos e tratamentos.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	9	145,8499	16,2055	1,36	0,2233
Erro	69	822,0488	11,9138		
Total	78	967,8987			
Coeficiente de Variação: 33,75					

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	59,3860	14,8465	1,25	0,2997*
Tratamento	1	1,1418	1,1418	0,10	0,7578*
Tratamento x Jumento	4	21,2346	21,23	1,78	0,1423*
*p>0,05					

Análise 688. Comparação do volume de sêmen/dose inseminante de éguas inseminadas com 400 ou 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, diluídos e resfriados, entre jumentos e tratamentos.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	9	44,6843	4,9649	18,33	0,0001
Erro	147	39,8254	0,2709		
Total	156	84,5096			
Coeficiente de Variação: 49,66					

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	15,0661	3,7665	13,90	0,0001*
Tratamento	1	26,2879	26,2879	97,03	0,0001*
Tratamento x Jumento	4	2,5072	0,6268	2,31	0,0602
*p<0,05					

Análise 689. Comparação do volume de diluidor/dose inseminante de éguas inseminadas com 400 ou 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, diluídos e resfriados, entre jumentos e tratamentos.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	9	44,6843	4,9649	18,33	0,0001
Erro	147	39,8254	0,2709		
Total	156	84,5096			
Coefficiente de Variação: 2,48					

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	15,0661	3,7665	13,90	0,0001*
Tratamento	1	26,2879	26,2879	97,03	0,0001*
Tratamento x Jumento	4	2,5072	0,6268	2,31	0,0602
*p<0,05					

Análise 690. Comparação do número de espermatozoides/dose inseminante de éguas inseminadas com 400 ou 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, diluídos e resfriados, entre jumentos e tratamentos.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	9	6530427,5259	725603,0584	1314,83	0,0001
Erro	147	81123,7582	551,8623		
Total	156	6611551,2841			
Coefficiente de Variação: 3,90					

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	7500,6680	1875,1670	3,40	0,0109*
Tratamento	1	5364082,2616	5364082,2616	9719,97	0,0001*
Tratamento x Jumento	4	7673,4508	1918,3627	3,48	0,0096*
*p<0,05					

Agrupamento pelo teste					
Teste estatístico					
SNK (p<0,05)	Jumento 1	Jumento 2	Jumento 3	Jumento 4	Jumento 5

400	c	c	c	c	c
800	a	b	b	b	b

Análise 691. Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e a sua pré-diluição, de éguas inseminadas com 400 ou 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, diluídos e resfriados, entre jumentos e tratamentos.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	9	18,5257	2,0584	3,77	0,0003
Erro	147	80,1750	0,5454		
Total	156	98,7006			
Coefficiente de Variação: 25,65					

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	9	16,6896	4,1724	7,65	0,0001*
Tratamento	147	0,0464	0,0464	0,09	0,7708
Tratamento x Jumento	156	0,6303	0,1576	0,29	0,8848
*p<0,05					

Análise 692. Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e a sua diluição, para éguas inseminadas com 400 ou 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, diluídos e resfriados, entre jumentos e tratamentos.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	9	446,9772	49,6641	2,88	0,0037
Erro	144	2480,6072	17,2264		
Total	153	2927,5844			
Coefficiente de Variação: 27,25					

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	355,7369	88,9342	5,16	0,0006*
Tratamento	1	2,4525	2,4525	0,14	0,7065
Tratamento x Jumento	4	54,6862	13,6716	0,79	0,5311
*p<0,05					

Análise 693. Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e o seu resfriamento, para éguas inseminadas com 400 ou 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, diluídos e resfriados, entre jumentos e tratamentos.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	9	435,3284	48,3698	3,14	0,0017

Erro	147	2260,9264	15,3805
Total	156	2696,2548	

Coefficiente de Variação: 21,11

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	321,5216	80,3804	5,23	0,0006*
Tratamento	1	5,6421	5,6421	0,37	0,5457
Tratamento x Jumento	4	60,6378	15,1594	0,99	0,4174

*p<0,05

Análise 694. Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e a inseminação artificial de éguas com 400 ou 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, diluídos e resfriados, entre jumentos e tratamentos.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	9	14,8360	1,6484	0,62	0,7764
Erro	147	389,1751	2,6474		
Total	156	404,0112			

Coefficiente de Variação: 8,82

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	7,7626	1,9406	0,73	0,5708*
Tratamento	1	1,8148	1,8148	0,69	0,4090*
Tratamento x Jumento	4	6,8281	1,7070	0,64	0,6314*

*p>0,05

Análise 695. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 400 ou 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, diluídos e resfriados, entre jumentos e tratamentos.

Teste Kruskal-Wallis		
CHISQ	DF	Prob> CHISQ
22,567	9	0,0072*

*p<0,05

Análise 696. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, diluídos e resfriados, entre os jumentos 1 e 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
298,000	0,3172	0,7511*

*p>0,05

Análise 697. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, diluídos e resfriados, entre os jumentos 2 e 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
129,000	-0,4995	0,6174*
*p>0,05		

Análise 698. Comparação do número de inseminações/ciclo entre éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides/dose, do jumento 1, ou 800 milhões de espermatozóides/dose, do jumento 3, diluídos e resfriados.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
308,000	0,5865	0,5575*
*p>0,05		

Análise 699. Comparação do número de inseminações/ciclo entre éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides/dose, do jumento 5, ou 800 milhões de espermatozóides/dose, do jumento 3, diluídos e resfriados.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
222,0000	0,5781	0,5632*
*p>0,05		

Análise 700. Comparação do número de inseminações/ciclo entre éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides, do jumento 2, ou 800 milhões de espermatozóides, do jumento 3, diluídos e resfriados.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
105,000	-1,1123	0,2660*
*p>0,05		

Análise 701. Comparação do número de inseminações/ciclo entre éguas inseminadas com 400 ou 800 milhões de espermatozóides diluídos e resfriados, do jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
152,000	1,4513	0,1467*
*p>0,05		

Análise 702. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 800 milhões de espermatozóides, diluídos e resfriados, entre os jumentos 3 e 4.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
203,000	1,6424	0,1005*
*p>0,05		

Análise 703. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 800 milhões de espermatozoides, diluídos e resfriados, entre os jumentos 3 e 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
89,0000	-2,0743	0,0380*
*p<0,05		

Análise 704. Comparação do número de inseminações/ciclo entre éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozoides, do jumento 4, ou 800 milhões de espermatozoides, do jumento 3, diluídos e resfriados.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
74,0000	-2,1071	0,0351*
*p<0,05		

Análise 705. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 800 milhões de espermatozoides, diluídos e resfriados, entre os jumentos 1 e 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
21,0000	-0,4786	0,6322*
*p>0,05		

Análise 706. Comparação do número de inseminações/ciclo entre éguas inseminadas com 400 ou 800 milhões de espermatozoides, diluídos e resfriados, do jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
840,0000	-1,1289	0,2589*
*p>0,05		

Análise 707. Comparação do número de inseminações/ciclo entre éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozoides, do jumento 5, ou 800 milhões de espermatozoides, do jumento 1, diluídos e resfriados.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
392,0000	-1,0749	0,2824*
*p>0,05		

Análise 708. Comparação do número de inseminações/ciclo entre éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozoides, do jumento 2, ou 800 milhões de espermatozoides, do jumento 1, diluídos e resfriados.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
165,0000	-1,3298	0,1836*
*p>0,05		

Análise 709. Comparação do número de inseminações/ciclo entre éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozoides, do jumento 3, ou 800 milhões de espermatozoides, do jumento 1, diluídos e resfriados.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
226,0000	-1,7036	0,0885*
*p>0,05		

Análise 710. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 800 milhões de espermatozoides, diluídos e resfriados, entre os jumentos 1 e 4.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
218,0000	-1,9155	0,0554*
*p>0,05		

Análise 711. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 800 milhões de espermatozoides, diluídos e resfriados, entre os jumentos 1 e 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
133,000	-2,3417	0,0192*
*p<0,05		

Análise 712. Comparação do número de inseminações/ciclo entre éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozoides, do jumento 4, ou 800 milhões de espermatozoides, do jumento 1, diluídos e resfriados.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
112,0000	-2,3527	0,0186*
*p<0,05		

Análise 713. Comparação do número de inseminações/ciclo entre éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozoides, do jumento 1, ou 800 milhões de espermatozoides, do jumento 2, diluídos e resfriados.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
241,5000	0,3053	0,7601*
*p>0,05		

Análise 714. Comparação do número de inseminações/ciclo entre éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozoides, do jumento 5, ou 800 milhões de espermatozoides, do jumento 2, diluídos e resfriados.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
176,0000	0,5126	0,6082*
*p>0,05		

Análise 715. Comparação do número de inseminações/ciclo entre éguas inseminadas com 400 milhões ou 800 milhões de espermatozoides, diluídos e resfriados, do jumento 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z

95,0000	-1,3744	0,1693*
*p>0,05		

Análise 716. Comparação do número de inseminações/ciclo entre éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozoides, do jumento 3, ou 800 milhões de espermatozoides, do jumento 2, diluídos e resfriados.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
160,5000	1,7207	0,0853*
*p>0,05		

Análise 717. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 800 milhões de espermatozoides, diluídos e resfriados, entre os jumentos 2 e 4.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
164,0000	1,8842	0,0595*
*p>0,05		

Análise 718. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 800 milhões de espermatozoides, diluídos e resfriados, entre os jumentos 2 e 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
81,0000	-2,2511	0,0244*
*p<0,05		

Análise 719. Comparação do número de inseminações/ciclo entre éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozoides, do jumento 4, ou 800 milhões de espermatozoides, do jumento 2, diluídos e resfriados.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
67,0000	-2,2764	0,0228*
*p<0,05		

Análise 720. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozoides, diluídos e resfriados, entre os jumentos 1 e 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
413,0000	-0,6172	0,5371*
*p>0,05		

Análise 721. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozoides, diluídos e resfriados, entre os jumentos 1 e 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
155,0000	-1,6335	0,1024*
*p>0,05		

Análise 722. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides, diluídos e resfriados, entre os jumentos 1 e 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
214,500	-1,9877	0,0468*
*p<0,05		

Análise 723. Comparação do número de inseminações/ciclo entre éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides, do jumento 1, ou 800 milhões de espermatozóides, do jumento 4, diluídos e resfriados.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
208,000	-2,1590	0,0309*
*p<0,05		

Análise 724. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides, do jumento 1, ou 800 milhões de espermatozóides, do jumento 5, diluídos e resfriados.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
129,0000	-2,4620	0,0138*
*p<0,05		

Análise 725. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides, diluídos e resfriados, entre os jumentos 1 e 4.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
109,0000	-2,4532	0,0142*
*p<0,05		

Análise 726. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides, diluídos e resfriados, entre os jumentos 2 e 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
120,000	-1,4265	0,1537*
*p>0,05		

Análise 727. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides, diluídos e resfriados, entre os jumentos 3 e 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
170,0000	-1,8183	0,0690*
*p>0,05		

Análise 728. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides, do jumento 5, ou 800 milhões de espermatozóides, do jumento 4, diluídos e resfriados.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
164,500	-2,0248	0,0429*
*p<0,05		

Análise 729. Comparação do número de inseminações/ciclo entre éguas inseminadas com 400 milhões ou 800 milhões de espermatozoides, diluídos e resfriados, do jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
98,0000	-2,4508	0,0143*
*p<0,05		

Análise 730. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozoides, diluídos e resfriados, entre os jumentos 4 e 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
81,5000	-2,4696	0,0135*
*p<0,05		

Análise 731. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozoides, diluídos e resfriados, entre os jumentos 2 e 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
125,000	0,7894	0,4299*
*p>0,05		

Análise 732. Comparação do número de inseminações/ciclo entre éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozoides, do jumento 2, ou 800 milhões de espermatozoides, do jumento 4, diluídos e resfriados.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
130,000	1,2061	0,2278*
*p>0,05		

Análise 733. Comparação do número de inseminações/ciclo entre éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozoides, do jumento 2, ou 800 milhões de espermatozoides, do jumento 5, diluídos e resfriados.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
125,000	2,1250	0,0336*
*p<0,05		

Análise 734. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozoides, diluídos e resfriados, entre os jumentos 2 e 4.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z

182,000	0,5556	0,5785*
*p>0,05		

Análise 735. Comparação do número de inseminações/ciclo entre éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides, do jumento 3, ou 800 milhões de espermatozóides, do jumento 5, diluídos e resfriados.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
99,0000	-1,7779	0,0754*
*p>0,05		

Análise 736. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides, diluídos e resfriados, entre os jumentos 3 e 4.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
82,0000	-1,9300	0,0536*
*p>0,05		

Análise 737. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 800 milhões de espermatozóides, diluídos e resfriados, entre os jumentos 4 e 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
104,000	-1,2627	0,2067*
*p>0,05		

Análise 738. Comparação do número de inseminações/ciclo entre éguas inseminadas com 400 ou 800 milhões de espermatozóides, diluídos e resfriados, do jumento 4.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
86,5000	-1,4269	0,1536*
*p>0,05		

Análise 739. Comparação do número de inseminações/ciclo entre éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides, do jumento 4, ou 800 milhões de espermatozóides, do jumento 5, diluídos e resfriados.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
88,0000	-0,1430	0,8863*
*p>0,05		

Análise 740. Comparação da taxa de gestação/ciclo entre éguas inseminadas com 400 ou 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, diluídos e resfriados, para o jumento 1.

Frequência	400	800	Total
Gestantes	8	8	15
Não gestantes	7	7	15
Total	15	15	30

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	0,000	1	1,000

Análise 741. Comparação da taxa de gestação/ciclo entre éguas inseminadas com 400 ou 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, diluídos e resfriados, para o jumento 2.

Frequência	400	800	Total
Gestantes	2	2	4
Não gestantes	3	3	6
Total	5	5	10

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	0,000	1	1,000

Análise 742. Comparação da taxa de gestação/ciclo entre éguas inseminadas com 400 ou 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, diluídos e resfriados, para o jumento 3.

Frequência	400	800	Total
Gestantes	2	3	5
Não gestantes	5	3	8
Total	7	6	13

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	0,627	1	0,429

Análise 743. Comparação da taxa de gestação/ciclo entre éguas inseminadas com 400 ou 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, diluídos e resfriados, para o jumento 4.

Frequência	400	800	Total
Gestantes	3	2	5
Não gestantes	3	3	6
Total	6	5	11

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	0,110	1	0,740

Análise 744. Comparação da taxa de gestação/ciclo entre éguas inseminadas com 400 ou 800 milhões de espermatozoides/dose inseminante, diluídos e resfriados, para o jumento 5.

Frequência	400	800	Total
Gestantes	2	3	5
Não gestantes	6	4	10
Total	8	7	15

7.3.2.2. Análises referentes à Tabela 27.

Análise 745. Comparação da idade das éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozoides.

Tratamento	N	Média	Erro Padrão	Mínimo	Máximo	p
400	41	10,16	0,54	2,50	17,00	0,8017
800	38	10,30	0,59	2,50	17,50	

Análise 746. Comparação do volume de sêmen/dose inseminante das éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozoides.

Tratamento	N	Média	Erro Padrão	Mínimo	Máximo	p
400	80	0,65	0,04	0,26	2,38	0,0000
800	77	1,46	0,09	0,44	4,76	

Análise 747. Comparação do volume de diluidor/dose inseminante das éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozoides.

Tratamento	N	Média	Erro Padrão	Mínimo	Máximo	p
400	80	21,35	0,04	19,62	21,74	0,0000
800	77	20,54	0,09	17,24	21,56	

Análise 748. Comparação do número de espermatozoides/dose inseminante de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozoides.

Tratamento	N	Média	Erro Padrão	Mínimo	Máximo	p
400	80	402,81	0,78	396,00	423,75	0,0000
800	77	810,29	3,99	699,20	904,40	

Análise 749. Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e a sua pré-diluição, para éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozoides.

Tratamento	N	Média	Erro Padrão	Mínimo	Máximo	p
400	80	2,84	0,08	2,00	5,00	0,3453
800	77	2,92	0,10	2,00	6,00	

Análise 750. Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e a sua diluição para éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozoides.

Tratamento	N	Média	Erro Padrão	Mínimo	Máximo	p
400	78	14,83	0,49	9,00	31,00	0,9639
800	76	15,64	0,50	10,00	31,00	

Análise 751. Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e o seu resfriamento para éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozoides.

Tratamento	N	Média	Erro Padrão	Mínimo	Máximo	p
400	80	18,21	0,46	12,00	34,00	0,7735
800	77	18,96	0,48	13,00	34,00	

Análise 752. Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e a inseminação artificial de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozóides.

Tratamento	N	Média	Erro Padrão	Mínimo	Máximo	p
400	80	18,50	0,19	14,10	23,22	0,2711
800	77	18,37	0,17	15,77	23,32	

Análise 753. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozóides.

Teste Kruskal-Wallis		
CHISQ	DF	Prob> CHISQ
0,2522	1	0,6156*
*p>0,05		

Análise 754. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozóides, para o jumento 1.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
237,0000	0,1743	0,8617*
*p>0,05		

Análise 755. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozóides, para o jumento 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
27,5000	0	1,0000*
*p>0,05		

Análise 756. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozóides, para o jumento 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
41,0000	-0,0880	0,9299*
*p>0,05		

Análise 757. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozóides, para o jumento 4.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
34,5000	0,8729	0,3827*

*p>0,05

Análise 758. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozóides, para o jumento 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
42,5000	-1,6100	0,1074*

*p>0,05

Análise 759. Comparação da taxa de gestação/ciclo de éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os jumentos.

Frequência	Jumento 1	Jumento 2	Jumento 3	Jumento 4	Jumento 5	Total
Gestantes	8	2	2	3	2	17
Não gestantes	7	3	5	3	6	24
Total	15	5	7	6	8	41

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	2,428	4	0,658

Análise 760. Comparação da taxa de gestação/ciclo de éguas inseminadas com 800 milhões de espermatozóides/dose inseminante, entre os jumentos.

Frequência	Jumento 1	Jumento 2	Jumento 3	Jumento 4	Jumento 5	Total
Gestantes	8	2	3	2	3	18
Não gestantes	7	3	3	3	4	10
Total	15	5	6	5	7	38

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	0,506	4	0,973

Análise 761. Comparação da taxa de gestação/ciclo entre éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozóides, independentemente do jumento utilizado.

Frequência	400	800	Total
Gestantes	17	18	35
Não gestantes	24	20	44
Total	41	38	79

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	0,279	1	0,598

Análise 762. Efeito do intervalo entre a inseminação artificial e a ovulação sobre a taxa de gestação/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozóides, independentemente do jumento.

Frequência	24h pré	48h pré	48h pré e pós	72h pré	Total
Gestantes	11	22	1	1	35
Não gestantes	8	31	4	1	44
Total	19	53	5	2	79

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	2,813	3	0,421

Análise 763. Comparação da idade das éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozóides, após agrupamento em duas faixas etárias – até 12,5 anos e maior ou igual a 13 anos.

Idade	N	Média	Erro Padrão	Mínimo	Máximo	p
Até 12,5 anos	54	8,46	0,37	2,50	12,50	0,0000
≥ 13 anos	25	14,04	0,25	13,00	17,50	

Análise 764. Efeito da idade sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozóides.

Frequência	Até 12,5 anos	≥ 13 anos	Total
Gestantes	21	14	35
Não gestantes	33	11	44
Total	54	24	79

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	2,028	1	0,154

Análise 765. Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e a última inseminação artificial, após o agrupamento em intervalos até 18 horas e maior que 18 horas.

Intervalo	N	Média	Erro Padrão	Mínimo	Máximo	p
Até 18h	29	16,82	0,17	14,10	17,97	0,1557
> 18h	50	19,47	0,17	18,17	23,32	

Análise 766. Efeito do intervalo entre a coleta do sêmen e a última inseminação artificial de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozóides.

Frequência	Até 18horas	> 18horas	Total
Gestantes	8	27	35
Não gestantes	21	23	44
Total	29	50	79

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	5,190	1	0,023

Análise 767. Efeito do número de inseminações/ciclo sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozoides, após o agrupamento em 1IA/ciclo ou mais de 1IA/ciclo.

Frequência	1 IA	> 1 IA	Total
Gestantes	7	28	35
Não gestantes	19	25	44
Total	26	53	79

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	4,745	1	0,029

Análise 768. Efeito do número de inseminações/ciclo sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozoides.

Frequência	1 IA	2 IAs	3 IAs	4 IAs	5 IAs	Total
Gestantes	7	21	3	3	1	35
Não gestantes	19	18	3	2	2	44
Total	26	39	6	5	3	79

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	5,347	4	0,254

Análise 769. Efeito da categoria reprodutiva sobre a taxa de gestação de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, em doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozoides.

Frequência	Solteira	“Cio do Potro”	Parida	Potra	Total
Gestantes	8	11	14	2	35
Não gestantes	13	13	13	5	44
Total	21	24	27	7	79

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	1,676	3	0,642

7.3.2.3. Análises estatísticas referentes à Tabela 28.

Análise 770. Comparação da idade das éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, entre jumentos, independentemente do tratamento.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	4	60,7332	15,1833	1,24	0,3020
Erro	74	907,1655	12,2590		
Total	78	967,8987			
Coeficiente de Variação: 34,23					

Análise de Variância

Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	60,7332	15,1833	1,24	0,3020*

*p>0,05

Análise 771. Comparação do volume de sêmen/dose inseminante de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, entre os jumentos, independentemente do tratamento.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	4	18,0309	4,5077	10,31	0,0001
Erro	152	66,4787	0,4374		
Total	158	84,5096			

Coeficiente de Variação: 63,10

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	18,0309	4,5077	10,31	0,0001*

*p<0,05

Agrupamento pelo teste					
Teste estatístico	Jumento 1	Jumento 2	Jumento 3	Jumento 4	Jumento 5
SNK (p<0,05)	b	b	b	a	a

Análise 772. Comparação do volume de diluidor/dose inseminante de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, entre jumentos, independentemente do tratamento.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	4	18,0309	4,5077	10,31	0,0001
Erro	152	66,4787	0,4374		
Total	156	84,5096			

Coeficiente de Variação: 3,16

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	18,0309	4,5077	10,31	0,0001*

*p<0,05

Agrupamento pelo teste					
Teste estatístico	Jumento 1	Jumento 2	Jumento 3	Jumento 4	Jumento 5
SNK (p<0,05)	a	a	a	b	a

Análise 773. Comparação do número de espermatozoides/dose inseminante de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, entre jumentos, independentemente do tratamento.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	4	117521,9512	29380,4878	0,69	0,6015
Erro	152	6494029,3329	42713,8772		
Total	156	6611551,2841			
Coeficiente de Variação: 34,30					

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	117521,9512	29380,4878	0,69	0,6015*
*p>0,05					

Análise 774. Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e a sua pré-diluição, em minutos, de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, entre jumentos, independentemente do tratamento.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	4	17,8933	4,4733	8,41	0,0001
Erro	152	80,8073	0,5316		
Total	156	98,7006			
Coeficiente de Variação: 25,33					

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	17,8933	4,4733	8,41	0,0001*
*p<0,05					

Agrupamento pelo teste					
Teste estatístico	Jumento 1	Jumento 2	Jumento 3	Jumento 4	Jumento 5
SNK (p<0,05)	b	a	b	a	b

Análise 775. Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e a sua diluição, em minutos, de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, entre jumentos, independentemente do tratamento.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	4	379,5429	94,8857	5,55	0,0003
Erro	149	2548,0415	17,1009		
Total	153	2917,5844			
Coeficiente de Variação: 27,15					

Análise de Variância

Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	379,5429	94,8857	5,55	0,0003*

*p<0,05

Teste estatístico	Agrupamento pelo teste				
	Jumento 1	Jumento 2	Jumento 3	Jumento 4	Jumento 5
SNK (p<0,05)	b	b	ab	a	b

Análise 776. Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e o seu resfriamento, em minutos, de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, entre jumentos, independentemente do tratamento.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	4	362,8793	90,7198	5,91	0,0002
Erro	152	2333,3755			
Total	156				

Coefficiente de Variação: 20,07

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	362,8793	90,7198	5,91	0,0002*

*p<0,05

Teste estatístico	Agrupamento pelo teste				
	Jumento 1	Jumento 2	Jumento 3	Jumento 4	Jumento 5
SNK (p<0,05)	b	b	b	a	b

Análise 777. Comparação do intervalo entre a coleta do sêmen e a inseminação artificial, em horas, de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, entre jumentos, independentemente do tratamento.

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Modelo	4	7,4382	1,8596	0,71	0,5844
Erro	152	396,5728	2,6090		
Total	156	404,0112			

Coefficiente de Variação: 8,76

Análise de Variância					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Jumento	4	7,4382	1,8596	0,71	0,5844*

*p>0,05

Análise 778. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, entre jumentos, independentemente do tratamento.

Teste Kruskal-Wallis		
CHISQ	DF	Prob> CHISQ
1,7713	4	0,7777*
*p>0,05		

Análise 779. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides, entre os jumentos 1 e 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
55,0000	0,1865	0,8520*
*p>0,05		

Análise 780. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides, entre os jumentos 1 e 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
79,0000	-0,0756	0,9397*
*p>0,05		

Análise 781. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides, entre os jumentos 1 e 4.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
54,0000	-0,9548	0,3397*
*p>0,05		

Análise 782. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides, entre os jumentos 1 e 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
104,5000	-0,5404	0,5889*
*p>0,05		

Análise 783. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides, entre os jumentos 2 e 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
35,0000	0,6761	0,4990*
*p>0,05		

Análise 784. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozóides, entre os jumentos 2 e 4.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
37,5000	1,6499	0,0990*
*p>0,05		

Análise 785. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozoides, entre os jumentos 2 e 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
32,5000	-0,3350	0,7376*
*p>0,05		

Análise 786. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozoides, entre os jumentos 3 e 4.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
34,5000	-1,2472	0,2123*
*p>0,05		

Análise 787. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozoides, entre os jumentos 3 e 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
50,0000	-0,7222	0,4702*
*p>0,05		

Análise 788. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 400 milhões de espermatozoides, entre os jumentos 4 e 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
34,5000	-1,3786	0,1680*
*p>0,05		

Análise 789. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 800 milhões de espermatozoides, entre os jumentos 1 e 2.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
55,5000	0,2312	0,8172*
*p>0,05		

Análise 790. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 800 milhões de espermatozoides, entre os jumentos 1 e 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z

66,5000	0	1,0000*
*p>0,05		

Análise 791. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 800 milhões de espermatozoides, entre os jumentos 1 e 4.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
52,0000	0	1,0000*
*p>0,05		

Análise 792. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 800 milhões de espermatozoides, entre os jumentos 1 e 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
65,5000	-0,1033	0,2699*
*p>0,05		

Análise 793. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 800 milhões de espermatozoides, entre os jumentos 2 e 3.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
31,5000	0,2013	0,8405*
*p>0,05		

Análise 794. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 800 milhões de espermatozoides, entre os jumentos 2 e 4.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
29,5000	0,3873	0,6985*
*p>0,05		

Análise 795. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 800 milhões de espermatozoides, entre os jumentos 2 e 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
40,5000	1,3553	0,1753*
*p>0,05		

Análise 796. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 800 milhões de espermatozoides, entre os jumentos 3 e 4.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
30,0000	0	1,0000*
*p>0,05		

Análise 797. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 800 milhões de espermatozoides, entre os jumentos 3 e 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
48,5000	0,9537	0,3402*
*p>0,05		

Análise 798. Comparação do número de inseminações/ciclo de éguas inseminadas com 800 milhões de espermatozoides, entre os jumentos 4 e 5.

Teste Wilcoxon		
S	Z	Prob> Z
39,0000	1,1371	0,2555*
*p>0,05		

Análise 799. Comparação da taxa de gestação/ciclo de éguas inseminadas com sêmen fracionado, diluído e resfriado, entre jumentos, independentemente do tratamento.

Frequência	Jumento 1	Jumento 2	Jumento 3	Jumento 4	Jumento 5	Total
Gestantes	16	4	5	5	5	35
Não gestantes	14	6	8	6	10	44
Total	30	10	13	11	15	79

Teste Estatístico	Valor	GL	p
Qui-Quadrado	1,984	4	0,739