

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA

**Taxa de gestação em éguas inseminadas com sêmen resfriado de jumentos,
utilizando diluidor à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas
concentrações de glicose**

NICOLE MELO DE ARAÚJO ROCHA

BELO HORIZONTE
2012

NICOLE MELO DE ARAÚJO ROCHA

**Taxa de gestação em éguas inseminadas com sêmen resfriado de jumentos,
utilizando diluidor à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas
concentrações de glicose**

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
2012**

R672t Rocha, Nicole Melo de Araújo, 1987-
Taxa de gestação em éguas inseminadas com sêmen resfriado de jumentos, utilizando diluidor à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose / Nicole Melo de Araújo Rocha. – 2012.
190 p. : il.

Orientador: José Monteiro da Silva Filho
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária.
Inclui bibliografia

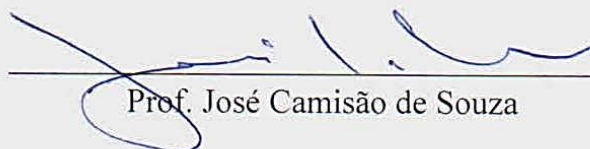
1. Égua – Reprodução – Teses. 2. Sêmen – Resfriamento – Teses. 3. Inseminação artificial – Teses. 4. Fertilidade – Teses. 5. Reprodução animal – Teses. I. Silva Filho, José Monteiro da. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. III. Título.

CDD – 636.108 926

Dissertação defendida e aprovada em 28 de setembro de 2012, pela Comissão Examinadora constituída por:



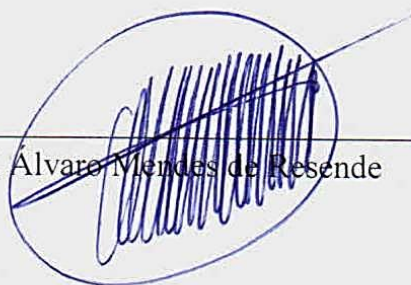
Prof. José Monteiro da Silva Filho
(Orientador)



Prof. José Camisão de Souza



Prof. Marc Roger Jean Marie Henry



Prof. Alvaro Mendes de Resende



Prof. Helton Mattana Saturnino

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Hegler e Jussara.
Com amor. Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me guiar e proteger sempre.

Aos meus pais, Hegler e Jussara e ao meu irmão Vinícius, pelo apoio, incentivo e amor incondicional.

Ao Marcelo, pelo amor, compreensão e companheirismo.

Ao Prof. José Monteiro, por ter me proporcionado tamanho crescimento pessoal e profissional, pelo excelente trabalho de orientação e, acima de tudo, por ter acreditado.

À Prof. Maristela Palhares, pela realização das análises estatísticas e pela disponibilidade demonstrada.

À amiga e colega de orientação Raissa Rossi, por ter sido fundamental para realização deste experimento..

Aos membros da banca examinadora, Prof. Álvaro, Prof. Helton, Prof. José Camisão e Prof. Marc Henry.

Ao Prof. Miguel Houri pela ajuda e incentivo.

Ao Sr. Hécio Ghader e seu filho João Paulo Ghader por disponibilizar a estrutura necessária e todos os animais utilizados neste experimento.

A todos os funcionários da fazenda Bálsamo.

À Dra. Marianne Vidament, Dra. Rebecca Jepsen, Dra. Myriam Boeta e Dra. Alessandra Rota, pela pronta disponibilização de informações e publicações importantes para a elaboração deste experimento.

Aos estagiários Davi, Gabriela e Thiago, pela ajuda prestada.

Às colegas de orientação Amanda, Alice, Carolina e Laura.

À Escola de Veterinária da UFMG, pela oportunidade de realização do curso.

Aos professores de reprodução animal da Escola de Veterinária, pelos ensinamentos.

Aos funcionários e coordenação do colegiado do programa de pós-graduação.

Aos funcionários do Departamento de Clínica e Cirurgia, em especial ao Fabinho, à Lili e ao Dário.

Aos animais utilizados durante o período experimental.

A todos aqueles que direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho, expresso meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO		
	RESUMO	19
	ABSTRACT	20
1.	INTRODUÇÃO	21
2.	REVISÃO DE LITERATURA	22
2.1.	Características do sêmen de equídeos	22
2.1.1.	Metabolismo e bioquímica da célula espermática	23
2.1.2.	Composição do plasma seminal dos equídeos	25
2.1.3.	Composição bioquímica das membranas da célula espermática e alterações causadas durante o resfriamento	27
2.2.	Fatores capazes de influenciar a qualidade do sêmen diluído, resfriado e transportado de equídeos	29
2.2.1.	Individualidade do reprodutor	29
2.2.2.	Tipo de coleta do sêmen	31
2.2.3.	Frequência de coletas	32
2.2.4.	Tempo para a diluição do sêmen	33
2.2.5.	Diluidores utilizados para o sêmen de equídeos	34
2.2.5.1.	Componentes dos diluidores	35
2.2.5.1.1.	Açúcares	35
2.2.5.1.2.	Macromoléculas	35
2.2.5.1.2.1.	Gema de ovo	35
2.2.5.1.2.2.	Albumina sérica bovina	39
2.2.5.1.2.3.	Natureza e papel das diferentes frações do leite	39
2.2.5.1.2.3.1.	Vantagens e desvantagens da utilização do leite como diluidor	41
2.2.5.1.3.	Estabilizadores de membrana	42
2.2.5.1.4.	Tampões	43
2.2.5.1.5.	Quelantes	44
2.2.5.1.6.	Antioxidantes	44
2.2.5.1.7.	Detergentes	45
2.2.5.1.8.	Antibióticos	45
2.2.5.2.	Controle do pH e da pressão osmótica do diluidor	46
2.2.5.3.	Tipos de diluidores utilizados para o resfriamento do sêmen de jumentos	47
2.2.6.	Influência do volume, da concentração espermática e do número de espermatozoides por dose inseminante sobre a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen resfriado de asininos	50
2.2.7.	Tipo de envasamento do sêmen de asininos resfriado	52
2.2.8.	Curva de resfriamento do sêmen de equídeos	53
2.2.9.	Temperatura final de armazenamento do sêmen de asininos	54
2.2.10.	Período de estocagem do sêmen de asininos	55
2.2.11.	Tipo de contêiner utilizado para o armazenamento do sêmen de equídeos	56
2.3.	Fatores capazes de influenciar a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen diluído, resfriado e/ou transportado de jumentos	57
2.3.1.	Efeito da idade da égua	57
2.3.2.	Efeito da categoria reprodutiva	59
2.3.3.	Efeito do momento da deposição do sêmen em relação à ovulação	61
2.3.4.	Efeito do número de inseminações artificiais por ciclo estral	63
3.	MATERIAL E MÉTODOS	64
3.1.	Localização, condições climáticas e período experimental	64
3.2.	Tratamentos e delineamento experimental	65
3.3.	Manejo reprodutivo e nutricional das éguas	68
3.4.	Manejo reprodutivo e nutricional dos reprodutores	69

3.5.	Diluidores utilizados	69
3.6.	Coleta, avaliação, diluição e resfriamento do sêmen	70
3.7.	Inseminação artificial	71
3.8.	Análise estatística	72
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	81
4.1	Efeito de dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo e diferentes concentrações de glicose e do resfriamento a 5°C sobre as características físicas do sêmen de jumentos e a fertilidade de fêmeas equinas inseminadas	81
4.1.1	Características físicas do sêmen fresco, fresco diluído e resfriado de jumentos	81
4.1.2	Efeitos do diluidor e do jumento sobre a fertilidade de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído e resfriado a 5°C	83
4.1.3	Efeito de dois diluidores à base de leite desnatado UHT – gema de ovo com duas concentrações de glicose, independentemente do reprodutor, sobre a fertilidade de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído e resfriado a 5°C	85
4.1.4	Efeito dos reprodutores, independentemente do diluidor, sobre a fertilidade de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído e resfriado a 5°C	89
4.2	Efeito da idade das fêmeas equinas, da categoria reprodutiva, do intervalo IA/ovulação e do número de inseminações artificiais sobre a fertilidade de fêmeas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C	92
4.2.1	Efeito da idade sobre a fertilidade de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C	92
4.2.2	Efeito da categoria reprodutiva sobre a fertilidade de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C	95
4.2.3	Efeito do intervalo IA-ovulação sobre a fertilidade de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C	98
4.2.4	Efeito do número de inseminações artificiais realizadas por ciclo sobre a fertilidade de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C	101
5	CONCLUSÕES	103
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	105
7	ANEXOS	115
Análise 1	Comparação do número de espermatozoides por dose inseminante - D1	138
Análise 2	Comparação do número de espermatozoides por dose inseminante - D2	138
Análise 3	Comparação do volume de sêmen por ejaculado	138
Análise 4	Comparação da motilidade do sêmen fresco	139
Análise 5	Comparação do número de espermatozoides por mL no sêmen fresco	139
Análise 6	Comparação do número de espermatozoides móveis por mL no sêmen fresco	139

Análise 7	Comparação do número de espermatozoides totais por ejaculado	140
Análise 8	Comparação do número de espermatozoides móveis por ejaculado	140
Análise 9	Comparação do volume de sêmen por dose inseminante	141
Análise 10	Comparação do volume de diluidor por dose inseminante	141
Análise 11	Comparação do número de espermatozoides por mL de sêmen diluído - D1	141
Análise 12	Comparação do número de espermatozoides por mL de sêmen diluído - D2	142
Análise 13	Comparação do número potencial de éguas inseminadas por ejaculado	142
Análise 14	Comparação do número real de éguas inseminadas por ejaculado	143
Análise 15	Comparação da taxa de diluição	143
Análise 16	Comparação do intervalo coleta-diluição do sêmen	143
Análise 17	Comparação do intervalo coleta-resfriamento do sêmen	143
Análise 18	Comparação do intervalo diluição-resfriamento do sêmen	144
Análise 19	Comparação do intervalo coleta-abertura do contêiner	144
Análise 20	Comparação do intervalo resfriamento-abertura do contêiner	144
Análise 21	Comparação da motilidade do sêmen diluído - D1	145
Análise 22	Comparação da motilidade do sêmen diluído - D2	145
Análise 23	Comparação da motilidade do sêmen resfriado - D1	145
Análise 24	Comparação da motilidade do sêmen resfriado - D2	146
Análise 25	Comparação do número de espermatozoides móveis por dose inseminante pré IA - D1	146
Análise 26	Comparação do número de espermatozoides móveis por dose inseminante pré IA - D2	146
Análise 27	Comparação do vigor do sêmen fresco	147
Análise 28	Comparação do vigor do sêmen diluído - D1	147
Análise 29	Comparação do vigor do sêmen diluído - D2	147
Análise 30	Comparação do vigor do sêmen resfriado - D1	147
Análise 31	Comparação do vigor do sêmen resfriado - D2	147
Análise 32	Comparação da taxa de gestação ao primeiro ciclo de acordo com o jumento e o tratamento	147
Análise 33	Comparação da taxa de gestação ao segundo ciclo de acordo com o jumento e o tratamento	148
Análise 34	Comparação da taxa de gestação ao terceiro ciclo de acordo com o jumento e o tratamento	148
Análise 35	Comparação da taxa de gestação por ciclo de acordo com o jumento e o tratamento	148
Análise 36	Comparação da taxa de gestação total de acordo com o jumento e o tratamento	148
Análise 37	Comparação do número de ciclos por égua de acordo com o jumento e o tratamento	148
Análise 38	Comparação das idades das éguas de acordo com o jumento e o tratamento	149
Análise 39	Comparação do volume de sêmen por dose inseminante de acordo com o jumento e o tratamento	149
Análise 40	Comparação do volume de diluidor por dose inseminante de acordo com o jumento e o tratamento	150
Análise 41	Comparação da concentração espermática à IA de acordo com o jumento e o tratamento	151
Análise 42	Comparação da motilidade espermática à IA de acordo com o jumento e o tratamento	152

Análise 43	Comparação do vigor espermático à IA de acordo com o jumento e o tratamento	152
Análise 44	Comparação do tempo coleta-diluição do sêmen de acordo com o jumento e o tratamento	152
Análise 45	Comparação do tempo coleta-resfriamento do sêmen de acordo com o jumento e o tratamento	152
Análise 46	Comparação do tempo coleta-abertura do contêiner de acordo com o jumento e o tratamento	153
Análise 47	Comparação do tempo resfriamento-IA de acordo com o jumento e o tratamento	153
Análise 48	Comparação do tempo coleta-IA de acordo com o jumento e o tratamento	154
Análise 49	Comparação do número de IA/ciclo de acordo com o jumento e o tratamento	154
Análise 50	Comparação do número de IA/ciclo positivo de acordo com o jumento e o tratamento	155
Análise 51	Comparação do número de IA/ciclo negativo de acordo com o jumento e o tratamento	155
Análise 52	Comparação entre o número de ciclos por égua gestante por jumento e tratamento	156
Análise 53	Comparação da eficiência de prenhez de acordo com o jumento e o tratamento	156
Análise 54	Comparação da taxa de gestação ao primeiro ciclo de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor	156
Análise 55	Comparação da taxa de gestação ao segundo ciclo de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor	157
Análise 56	Comparação da taxa de gestação ao terceiro ciclo de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor	157
Análise 57	Comparação da taxa de gestação por ciclo de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor	157
Análise 58	Comparação da taxa de gestação total ao primeiro ciclo de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor	157
Análise 59	Comparação da taxa de gestação total ao segundo ciclo de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor	157
Análise 60	Comparação da taxa de gestação total ao terceiro ciclo de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor	158
Análise 61	Comparação da taxa de gestação total de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor	158
Análise 62	Comparação do número de ciclos por égua de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor	158
Análise 63	Comparação da idade das éguas de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor	158
Análise 64	Comparação do volume de sêmen por dose inseminante de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor	158
Análise 65	Comparação do volume de diluidor por dose inseminante de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor	159
Análise 66	Comparação da concentração espermática à IA de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor	159
Análise 67	Comparação da motilidade espermática à IA de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor	159
Análise 68	Comparação do vigor espermático à IA de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor	159
Análise 69	Comparação do tempo coleta-diluição do sêmen de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor	160

Análise 70	Comparação do tempo coleta-resfriamento do sêmen de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor	160
Análise 71	Comparação do tempo coleta-abertura do contêiner de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor	160
Análise 72	Comparação do tempo resfriamento-IA de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor	160
Análise 73	Comparação do tempo coleta-IA de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor	160
Análise 74	Comparação do número de IA/ciclo de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor	161
Análise 75	Comparação do número de IA/ciclo positivo de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor	161
Análise 76	Comparação do número de IA/ciclo negativo de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor	161
Análise 77	Comparação do número de ciclos por égua gestante de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor	161
Análise 78	Comparação da eficiência de prenhez de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor	161
Análise 79	Comparação da taxa de gestação ao primeiro ciclo de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor	162
Análise 80	Comparação da taxa de gestação ao segundo ciclo de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor	162
Análise 81	Comparação da taxa de gestação ao terceiro ciclo de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor	162
Análise 82	Comparação da taxa de gestação por ciclo de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor	162
Análise 83	Comparação da taxa de gestação total de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor	163
Análise 84	Comparação do número de ciclos por égua de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor	163
Análise 85	Comparação da idade das éguas de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor	163
Análise 86	Comparação do volume de sêmen por dose inseminante de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor	163
Análise 87	Comparação do volume de diluidor por dose inseminante de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor	164
Análise 88	Comparação da concentração espermática à IA de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor	164
Análise 89	Comparação da motilidade espermática à IA de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor	165
Análise 90	Comparação do vigor espermático à IA de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor	165
Análise 91	Comparação do tempo coleta-diluição do sêmen de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor	165
Análise 92	Comparação do tempo coleta-resfriamento do sêmen de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor	165
Análise 93	Comparação do tempo coleta-abertura do contêiner de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor	166
Análise 94	Comparação do tempo resfriamento-IA de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor	166
Análise 95	Comparação do tempo coleta-IA de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor	166
Análise 96	Comparação do número de IA/ciclo de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor	167

Análise 97	Comparação do número de IA/ciclo positivo de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor	167
Análise 98	Comparação do número de IA/ciclo negativo de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor	167
Análise 99	Comparação do número de ciclos por égua gestante de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor	168
Análise 100	Comparação da eficiência de prenhez de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor	168
Análise 101	Comparação da taxa de gestação ao primeiro ciclo de acordo com a idade das fêmeas equinas	168
Análise 102	Comparação da taxa de gestação ao segundo ciclo de acordo com a idade das fêmeas equinas	168
Análise 103	Comparação da taxa de gestação ao terceiro ciclo de acordo com a idade das fêmeas equinas	169
Análise 104	Comparação da taxa de gestação por ciclo de acordo com a idade das fêmeas equinas	169
Análise 105	Comparação da taxa de gestação total ao primeiro ciclo de acordo com a idade das fêmeas equinas	169
Análise 106	Comparação da taxa de gestação total ao segundo ciclo de acordo com a idade das fêmeas equinas	169
Análise 107	Comparação da taxa de gestação total ao terceiro ciclo de acordo com a idade das fêmeas equinas	170
Análise 108	Comparação da taxa de gestação total de acordo com a idade das fêmeas equinas	170
Análise 109	Comparação do número de ciclos por égua de acordo com a idade das fêmeas equinas	170
Análise 110	Comparação do volume de sêmen por dose inseminante de acordo com a idade das fêmeas equinas	170
Análise 111	Comparação do volume de diluidor por dose inseminante de acordo com a idade das fêmeas equinas	170
Análise 112	Comparação da concentração espermática à IA de acordo com a idade das fêmeas equinas	171
Análise 113	Comparação da motilidade espermática à IA de acordo com a idade das fêmeas equinas	171
Análise 114	Comparação do vigor espermático à IA de acordo com a idade das fêmeas equinas	171
Análise 115	Comparação do tempo coleta-diluição do sêmen de acordo com a idade das fêmeas equinas	171
Análise 116	Comparação do tempo coleta-resfriamento do sêmen de acordo com a idade das fêmeas equinas	172
Análise 117	Comparação do tempo coleta-abertura do contêiner de acordo com a idade das fêmeas equinas	172
Análise 118	Comparação do tempo resfriamento-IA de acordo com a idade das fêmeas equinas	172
Análise 119	Comparação do tempo coleta-IA de acordo com a idade das fêmeas equinas	173
Análise 120	Comparação do número de IA/ciclo de acordo com a idade das fêmeas equinas	173
Análise 121	Comparação do número de IA/ciclo positivo de acordo com a idade das fêmeas equinas	173
Análise 122	Comparação do número de IA/ciclo negativo de acordo com a idade das fêmeas equinas	173
Análise 123	Comparação do número de ciclos por égua gestante de acordo com a idade das fêmeas equinas	174

Análise 124	Comparação da eficiência de prenhez de acordo com a idade das fêmeas equinas	174
Análise 125	Comparação da taxa de gestação ao primeiro ciclo de acordo com a categoria reprodutiva	174
Análise 126	Comparação da taxa de gestação ao segundo ciclo de acordo com a categoria reprodutiva	174
Análise 127	Comparação da taxa de gestação ao terceiro ciclo de acordo com a categoria reprodutiva	175
Análise 128	Comparação da taxa de gestação por ciclo de acordo com a categoria reprodutiva	175
Análise 129	Comparação do número de ciclos por égua de acordo com a categoria reprodutiva	175
Análise 130	Comparação das idades das éguas de acordo com a categoria reprodutiva	175
Análise 131	Comparação do volume de sêmen por dose inseminante de acordo com a categoria reprodutiva	176
Análise 132	Comparação do volume de diluidor por dose inseminante de acordo com a categoria reprodutiva	176
Análise 133	Comparação da concentração espermática à IA de acordo com a categoria reprodutiva	176
Análise 134	Comparação da motilidade espermática à IA de acordo com a categoria reprodutiva	176
Análise 135	Comparação do vigor espermático à IA de acordo com a categoria reprodutiva	177
Análise 136	Comparação do tempo coleta-diluição do sêmen de acordo com a categoria reprodutiva	177
Análise 137	Comparação do tempo coleta-resfriamento do sêmen de acordo com a categoria reprodutiva	177
Análise 138	Comparação do tempo coleta-abertura do contêiner de acordo com a categoria reprodutiva	177
Análise 139	Comparação do tempo resfriamento-IA de acordo com a categoria reprodutiva	178
Análise 140	Comparação do tempo coleta-IA de acordo com a categoria reprodutiva	178
Análise 141	Comparação do número de IA/ciclo de acordo com a categoria reprodutiva	179
Análise 142	Comparação do número de IA/ciclo positivo de acordo com a categoria reprodutiva	179
Análise 143	Comparação do número de IA/ciclo negativo de acordo com a categoria reprodutiva	179
Análise 144	Comparação da eficiência de prenhez de acordo com a categoria reprodutiva	179
Análise 145	Comparação da taxa de gestação ao primeiro ciclo de acordo com o intervalo IA-ovulação	180
Análise 146	Comparação da taxa de gestação ao segundo ciclo de acordo com o intervalo IA-ovulação	180
Análise 147	Comparação da taxa de gestação ao terceiro ciclo de acordo com o intervalo IA-ovulação	180
Análise 148	Comparação da taxa de gestação por ciclo de acordo com o intervalo IA-ovulação	180
Análise 149	Comparação do número de ciclos de acordo com o intervalo IA-ovulação	181
Análise 150	Comparação da idade das éguas de acordo com o intervalo IA-ovulação	181

Análise 151	Comparação do volume de sêmen por dose inseminante de acordo com o intervalo IA-ovulação	181
Análise 152	Comparação do volume de diluidor por dose inseminante de acordo com o intervalo IA-ovulação	181
Análise 153	Comparação da concentração espermática à IA de acordo com o intervalo IA-ovulação	182
Análise 154	Comparação da motilidade espermática à IA de acordo com o intervalo IA-ovulação	182
Análise 155	Comparação do vigor espermático à IA de acordo com o intervalo IA-ovulação	182
Análise 156	Comparação do tempo coleta-diluição do sêmen de acordo com o intervalo IA-ovulação	182
Análise 157	Comparação do tempo coleta-resfriamento do sêmen de acordo com o intervalo IA-ovulação	182
Análise 158	Comparação do tempo coleta-abertura do contêiner de acordo com o intervalo IA-ovulação	183
Análise 159	Comparação do tempo resfriamento-IA de acordo com o intervalo IA-ovulação	183
Análise 160	Comparação do tempo coleta-IA de acordo com o intervalo IA-ovulação	183
Análise 161	Comparação do número de IA/ciclo de acordo com o intervalo IA-ovulação	184
Análise 162	Comparação do número de IA/ciclo positivo de acordo com o intervalo IA-ovulação	184
Análise 163	Comparação do número de IA/ciclo negativo de acordo com o intervalo IA-ovulação	185
Análise 164	Comparação da eficiência de prenhez de acordo com o intervalo IA-ovulação	185
Análise 165	Comparação da taxa de gestação ao primeiro ciclo de acordo com o número de inseminações artificiais realizadas por ciclo	186
Análise 166	Comparação da taxa de gestação ao segundo ciclo de acordo com o número de inseminações artificiais realizadas por ciclo	185
Análise 167	Comparação da taxa de gestação ao terceiro ciclo de acordo com o número de inseminações artificiais realizadas por ciclo	186
Análise 168	Comparação da taxa de gestação por ciclo de acordo com o número de inseminações artificiais realizadas por ciclo	186
Análise 169	Comparação do número de ciclos de acordo com o número de inseminações artificiais realizadas por ciclo	186
Análise 170	Comparação da idade das éguas de acordo com o número de inseminações artificiais realizadas por ciclo	186
Análise 171	Comparação do volume de sêmen por dose inseminante de acordo com o número de inseminações artificiais realizadas por ciclo	186
Análise 172	Comparação do volume de diluidor por dose inseminante de acordo com o número de inseminações artificiais realizadas por ciclo	187
Análise 173	Comparação da concentração espermática à IA de acordo com o número de inseminações artificiais realizadas por ciclo	187
Análise 174	Comparação da motilidade espermática à IA de acordo com o número de inseminações artificiais realizadas por ciclo	187
Análise 175	Comparação do vigor espermático à IA de acordo com o número de inseminações artificiais realizadas por ciclo	188
Análise 176	Comparação do tempo coleta-diluição do sêmen de acordo com o número de inseminações artificiais realizadas por ciclo	188

Análise 177	Comparação do tempo coleta-resfriamento do sêmen de acordo com o número de inseminações artificiais realizadas por ciclo	188
Análise 178	Comparação do tempo coleta-abertura do contêiner de acordo com o número de inseminações artificiais realizadas por ciclo	188
Análise 179	Comparação do tempo resfriamento-IA de acordo com o número de inseminações artificiais realizadas por ciclo	189
Análise 180	Comparação do tempo coleta-IA de acordo com o número de inseminações artificiais realizadas por ciclo	189
Análise 181	Comparação da eficiência de prenhez de acordo com o número de inseminações artificiais realizadas por ciclo	189
Lista de gráficos		
Gráfico 3.1.	Precipitação mensal nos meses de outubro de 2011 a maio de 2012	65
Lista de figuras		
Figura 2.1	Ligação das LDLs da gema de ovo aos espermatozoides	37
Figura 3.1.	Organograma de controle reprodutivo das éguas, adaptado de Palhares (1987)	69
Figura 3.2.	A,B,C,D: Troncos utilizados para contenção das éguas;	76
	E,F: Éguas sem raça definida utilizadas no experimento	
Figura 3.3.	A: Piquetes onde eram soltos os reprodutores; B,D: Jumenta em cio contida através de peias de contenção; C: Égua em cio contida através de peias de contenção; E: Realização de coleta utilizando, como manequim, fêmea em cio contida através de peias de contenção	77
Figura 3.4.	A,B: Preparação dos diluidores, ovos lavados e esterilizados com álcool, separação da gema com passagem por papel filtro; C,D: Material utilizado para avaliação do sêmen e preparação das doses inseminantes;	78
	E,F: Diluição do sêmen com a utilização de pipeta graduada	
Figura 3.5.	A,D: Tubos de vidro contendo as doses individualizadas, identificadas e colocadas no contêiner; B: Centro refrigerador colocado no contêiner após os tubos contendo as doses; C: Fechamento do contêiner e identificação quanto aos reprodutores; E: Contêiner proposto por Palhares (1997)	79
Figura 3.6.	Classificação do edema uterino intramural: A,B: Edema grau 3; C,D: Edema grau 2; E,F: Edema grau 1; G: Vesícula embrionária aos 11 dias de gestação; H,I: Acúmulo de líquido intrauterino	80
Figura 7A	Ficha de controle reprodutivo individual das éguas (adaptado de Palhares, 1987)	115
Figura 7B	Ficha de avaliação física do sêmen fresco, diluído e resfriado e controle das inseminações	116
Figura 7C	Imagens ultrassonográficas de todas as gestações obtidas	117
Lista de tabelas		

Tabela 2.1.	Fertilidade de éguas e/ou jumentas inseminadas com sêmen asinino diluído em diluidores contendo gema de ovo	39
Tabela 2.2.	Fertilidade de éguas e/ou jumentas inseminadas com sêmen asinino fresco, diluído, resfriado ou congelado	48
Tabela 3.1.	Dados meteorológicos médios no período experimental	64
Tabela 3.2.	Distribuição dos ciclos estrais de fêmeas equinas por jumento e tratamento	66
Tabela 3.3.	Distribuição percentual dos ciclos estrais por jumento de acordo com a categoria reprodutiva das fêmeas equinas, independentemente do diluidor	66
Tabela 3.4.	Distribuição percentual dos ciclos estrais por jumento de acordo com a idade das fêmeas equinas, independentemente do diluidor	66
Tabela 3.5.	Distribuição percentual dos ciclos estrais por diluidor de acordo com a categoria reprodutiva das fêmeas equinas, independentemente do jumento.	66
Tabela 3.6.	Distribuição percentual dos ciclos estrais por diluidor de acordo com a idade das fêmeas equinas, independentemente do jumento.	66
Tabela 3.7.	Distribuição percentual dos ciclos estrais por diluidor e jumento de acordo com a categoria reprodutiva das fêmeas equinas.	67
Tabela 3.8.	Distribuição percentual dos ciclos estrais por diluidor e jumento de acordo com a idade das fêmeas equinas.	67
Tabela 3.9.	Composição dos diluidores utilizados	70
Tabela 3.10	Valores de probabilidade, no teste de normalidade, brutos e após transformação e para todas as variáveis e teste estatístico aplicado.	75
Tabela 4.1.	Desempenho reprodutivo, características físicas do sêmen a fresco e das doses inseminantes utilizadas no experimento	82
Tabela 4.2.	Taxa de gestação por ciclo estral de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C, considerando-se o efeito do diluidor e do jumento.	83
Tabela 4.3.	Variáveis de controle e de eficiência reprodutiva de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C, considerando-se o efeito do diluidor e do jumento.	84
Tabela 4.4.	Taxa de gestação por ciclo estral de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C, considerando-se o efeito do diluidor, independentemente do jumento.	85
Tabela 4.5.	Taxa de gestação total por ciclo estral de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C, considerando-se o efeito do diluidor, independentemente do jumento.	86
Tabela 4.6.	Variáveis de controle e de eficiência reprodutiva de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C, considerando-se o efeito do diluidor, independentemente do jumento.	87

Tabela 4.7.	Taxa de gestação por ciclo estral de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C, considerando-se o efeito de três jumentos da raça Pêga, independentemente do diluidor.	90
Tabela 4.8.	Variáveis de controle e de eficiência reprodutiva de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C, considerando-se o efeito de três jumentos da raça Pêga, independentemente do diluidor.	91
Tabela 4.9.	Taxa de gestação por ciclo estral de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C, considerando-se o efeito da idade das fêmeas.	93
Tabela 4.10.	Taxa de gestação total por ciclo estral de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C, considerando-se o efeito da idade das fêmeas.	93
Tabela 4.11.	Variáveis de controle e de eficiência reprodutiva de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C, considerando-se o efeito da idade das fêmeas.	94
Tabela 4.12.	Taxa de gestação por ciclo estral de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C, considerando-se o efeito da categoria reprodutiva.	96
Tabela 4.13.	Variáveis de controle e de eficiência reprodutiva de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C, considerando-se o efeito da categoria reprodutiva.	97
Tabela 4.14.	Distribuição percentual dos ciclos estrais por diluidor e jumento de acordo com o intervalo IA-ovulação das fêmeas equinas.	98
Tabela 4.15.	Taxa de gestação por ciclo estral de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C, considerando-se o efeito do intervalo IA-ovulação	99
Tabela 4.16.	Variáveis de controle e de eficiência reprodutiva de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C, considerando-se o efeito do intervalo IA-ovulação	100
Tabela 4.17.	Distribuição percentual dos ciclos estrais por diluidor e jumento de acordo com o número de inseminações artificiais realizadas por ciclo das fêmeas equinas	101
Tabela 4.18.	Taxa de gestação por ciclo estral de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C, considerando-se o efeito do número de inseminações artificiais realizadas por ciclo	102

Tabela 4.19.	Variáveis de controle e de eficiência reprodutiva de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C, considerando-se o efeito do número de inseminações artificiais realizadas por ciclo	102
--------------	---	-----

RESUMO

O presente estudo foi conduzido na fazenda Bálsamo, localizada no município de Luz, Minas Gerais, entre os meses de outubro de 2011 e maio de 2012. Objetivou-se, com este experimento, avaliar: a) o efeito de dois diluidores à base de leite desnatado UHT - gema de ovo e diferentes concentrações de glicose (D1 e D2) na preservação das características físicas do sêmen e fertilidade de éguas inseminadas com sêmen asinino diluído e resfriado a 5°C; b) a resposta das células espermáticas de diferentes reprodutores asininos frente ao resfriamento, com base nas características físicas do sêmen e fertilidade das éguas inseminadas e c) o efeito da idade das éguas, da categoria reprodutiva, do intervalo IA-ovulação e do número de inseminações artificiais realizadas por ciclo sobre a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen asinino diluído e resfriado. Para tal, foram utilizados 171 ciclos de 122 éguas sem raça definida, distribuídas, uniformemente, em dois tratamentos (TI e TII). Como doadores de sêmen foram utilizados três jumentos da raça Pêga. Após a coleta, o sêmen foi diluído em dois diferentes diluidores e utilizado para as inseminações dentro de $14,56 \pm 0,06$ horas após a coleta do sêmen, ou após $14,13 \pm 0,06$ horas do início do resfriamento. As éguas foram inseminadas às segundas, quartas e sextas-feiras, após a detecção de um folículo de 3,0 cm de diâmetro em um dos ovários, até a ovulação. Para diagnóstico de gestação foram realizadas ultrassonografias a partir do 11º dia após a ovulação. As taxas de concepção por ciclo não diferiram ($p > 0,05$) entre os diluidores, sendo de 67,90% para o D1 e 55,56% para o D2. Os jumentos diferiram ($p < 0,05$) entre si, quanto às características seminais, embora não tenham influenciado ($p > 0,05$) a fertilidade das éguas inseminadas. A motilidade espermática se manteve acima de 70% e o vigor acima de 3 após o período de armazenamento do sêmen resfriado para os três jumentos utilizados em ambos os diluidores. A idade das éguas (2,5 a 5, 6 a 10, 11 a 14 e maior ou igual a 15 anos), a categoria reprodutiva (potra, égua solteira, égua parida e égua no “cio do potro”), o intervalo IA-ovulação (24P, 48P, 48PP e 72PP) e o número de inseminações por ciclo (1, 2 e 3 ou mais IAs) não exerceram influência ($p > 0,05$) sobre a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen asinino diluído e resfriado a 5°C por até $14,56 \pm 0,06$ horas após a coleta do sêmen. Considerando-se os resultados deste experimento, os protocolos testados podem ser recomendados para utilização comercial.

Palavras-chave: Jumento, sêmen resfriado, inseminação artificial, fertilidade

ABSTRACT

The present study was conducted at Bálamo farm, located in Luz, Minas Gerais, Brazil, from October 2011 to May 2012. The aims of this study were to evaluate a) the effect of two extenders containing UHT skim milk, egg yolk and glucose (D1 and D2) on sperm preservation and fertility of mares inseminated with jackass cooled semen at 5°C; b) the behavior of spermatozoa from different jackasses after cooling, based on *in vitro* parameters and on fertility of inseminated mares; c) the effects of the age of the mares, reproductive status, interval between artificial insemination and ovulation and number of artificial inseminations per cycle on mare fertility. Therefore, 171 cycles of 122 mares of undefined breed, randomly distributed in two groups (TI and TII) were used. As semen donors, three jackasses of the Pêga breed were used. After collection, the semen was diluted in two different extenders and used for artificial insemination within 14.56 ± 0.06 hours of collection or 14.13 ± 0.06 hours after cooling. The inseminations occurred on Mondays, Wednesdays and Fridays, after the detection of a follicle with 3.0 cm diameter in one of the ovaries, until ovulation. The pregnancy was detected by ultrasonography starting at 11^o day after ovulation. The conception rates per cycle were 67.90% for D1 and 55.56% for D2 and it did not differ ($p > 0.05$) between the jackasses. The *in vitro* seminal parameters were different ($p < 0.05$) between the jackasses, but it did not affect ($p > 0.05$) the mare fertility. Semen motility remained above 70% and vigor was greater than 3 for all of the storage period in both extenders. Age, reproductive status, interval from insemination to ovulation and number of inseminations per cycle did not affect ($p > 0.05$) mares fertility after insemination with diluted and cooled jackass semen. Considering the current experimental conditions, the protocols tested may be recommended to commercial stud operations.

Keywords: Jackass, cooled semen, artificial insemination, fertility

1. INTRODUÇÃO

Os muares são animais híbridos, oriundos do cruzamento de jumentos (*Equus asinus*) e fêmeas equinas (*Equus caballus*), e tem sido amplamente utilizados como fonte de tração e no manejo de rebanhos de gado de corte, devido à sua força e rusticidade. Recentemente, estes híbridos tem sido utilizados, também, em concursos de marcha e cavalgadas, promovendo, assim, uma valorização destes animais, além de busca por aprimoramento genético. Destaca-se, no Brasil, a criação de jumentos da raça Pêga e seus híbridos (mulas e burros), oriundos, principalmente, do seu cruzamento com éguas de raças nacionais como Campolina, Mangalarga e Mangalarga Marchador.

O Brasil, segundo a FAO (Food and Agricultural Organization of the United Nations), possuía, em 2010, a terceira maior população de muares do mundo, constituída por 1.277.420 animais (11,84% da população mundial). Desta maneira, as pesquisas envolvendo as biotecnologias da reprodução na espécie asinina, no Brasil, tem sido destinada à produção de muares, envolvendo a inseminação de éguas com sêmen fresco, diluído e/ou resfriado de asininos (Silva, 1988; Ferreira, 1993; Leite, 1994; Rossi, 2008; Carvalho, 2011).

Na Europa, no entanto, as pesquisas envolvendo a utilização das biotecnologias da reprodução na espécie asinina tem sido realizadas visando à preservação de algumas raças que se encontram em perigo de extinção, como os jumentos Zamorano-Leones e

Catalão, na Espanha, e o Baudet Du Poitou na França (Trimeche et al., 1998; Serres et al., 2002; Rozas, 2005; Miró et al., 2009; Vidament et al., 2009).

A diluição e o resfriamento do sêmen oferecem várias vantagens, valendo salientar: 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 (Loomis e Squires, 2005); aumento do ganho genético; redução da consanguinidade, permitindo a utilização de um reprodutor de alto valor genético localizado à grande distância de uma propriedade e, ainda, a eliminação dos custos e riscos associados ao transporte das fêmeas, principalmente daquelas que se encontram lactantes.

O processo de resfriamento do sêmen requer tecnologia e equipamentos mínimos que permitam a coleta, a avaliação e a diluição do sêmen, seguidos pela preparação e resfriamento das doses inseminantes. Entretanto, diversos fatores são capazes de influenciar a longevidade e a viabilidade dos espermatozoides submetidos ao resfriamento, como a composição do diluidor utilizado, protocolos de refrigeração, métodos de transporte, além da individualidade do reprodutor.

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 pelo resfriamento. 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. Entretanto, a literatura é escassa e controversa no que diz respeito à composição dos diluidores para a diluição e resfriamento do sêmen asinino destinado à inseminação de éguas (Ferreira, 1993; Boeta e Quintero, 2000; Rossi, 2008; Vidament et al., 2009; Carvalho, 2011).

Considerando-se a importância do uso da inseminação artificial (IA), do resfriamento e congelamento do sêmen no avanço da equideocultura, é fundamental o desenvolvimento de diluidores e protocolos para a espécie asinina. Diante do exposto, objetivou-se com esse trabalho:

- a) Avaliar o efeito de dois diluidores à base de leite desnatado UHT - gema de ovo e diferentes concentrações de glicose na preservação das características físicas do sêmen e fertilidade de éguas inseminadas com sêmen asinino diluído e resfriado a 5°C;
- b) Observar a resposta das células espermáticas de diferentes reprodutores asininos frente ao resfriamento, com base nas características físicas do sêmen e fertilidade das éguas inseminadas;
- c) Avaliar o efeito da idade das éguas, da categoria reprodutiva, do intervalo IA-ovulação e do número de inseminações artificiais realizadas por ciclo sobre a fertilidade de éguas

inseminadas com sêmen asinino diluído e resfriado.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Características do sêmen de equídeos

Em virtude de pertencerem ao mesmo grupo taxonômico dos equinos, os asininos são considerados similares aos cavalos quanto à fisiologia reprodutiva. No entanto, apesar da similaridade apresentada entre as espécies, há peculiaridades inerentes a cada uma delas em vários aspectos. Sendo assim, muitas tecnologias tem sido erroneamente adaptadas para os jumentos (Nishikawa, 1959).

As características físicas e morfológicas do sêmen de asininos diferem em alguns parâmetros daquelas encontradas para o sêmen de equinos. O volume total do ejaculado dos jumentos é menor, assim como o volume de gel encontrado. Neste aspecto, Morais et al (1994) ao avaliarem as características físicas e morfológicas de seis reprodutores da raça Pêga, encontraram os seguintes valores: 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: $444,11 \pm 182,72 \times 10^6/\text{mL}$, total de espermatozóides por ejaculado: $24,88 \pm 9,59 \times 10^9$, total de defeitos espermáticos: $15,60 \pm 3,62\%$, sendo $8,55 \pm 2,14\%$ de defeitos maiores e $7,04 \pm 2,56\%$ de defeitos menores. A concentração espermática por mL mostra valores mais altos que os encontrados para os equinos, embora

com grande variação: entre 34,5 e 101,9 x 10⁶ spz/mL (Henry et al., 1999), 252 a 610 x 10⁶ spz/mL (Santos, 1994) e 230,24 a 325,58 x 10⁶ spz/mL (Rossi, 2008).

Em relação à morfologia espermática, Nishikawa (1959) e Mann (1964) descreveram que a cabeça do espermatozoide de jumentos é maior e mais arredondada que a dos equinos. Além disto, El Wishy (1975) encontrou maior incidência de inserção abaxial da peça intermediária nos espermatozoides de asininos.

Ao submeter espermatozoides de asininos a diferentes desafios térmicos e osmóticos, Nishikawa (1959), demonstrou menor resistência em baixas (-16°C) e altas (57°C) temperaturas, além de maior sensibilidade às mudanças osmóticas. Demonstrou-se, ainda, que a queda brusca de temperatura causou danos mais severos aos espermatozoides asininos do que aos de equinos. Discordando destes achados, Mann et al. (1963), observaram maior resistência do sêmen de jumentos frente ao resfriamento.

Miró et al (2005) relataram a existência de subpopulações no ejaculado de jumentos Catalões, similarmente ao descrito, previamente, para outras espécies. Em seu trabalho foram identificadas quatro subpopulações diferentes quanto aos padrões de motilidade. A percentagem destas subpopulações no ejaculado variou em função do indivíduo, do ejaculado, da motilidade espermática total e da concentração espermática.

2.1.1. Metabolismo e bioquímica da célula espermática

Uma célula espermática madura é composta por cabeça, que contém o DNA e o acrossoma; peça intermediária, onde são localizadas as mitocôndrias, envolvidas no processo de produção de energia e a cauda, responsável pelo movimento do espermatozoide (Gadella et al., 2001).

Apesar de perder grande parte das organelas associadas ao processo metabólico, o espermatozoide é metabolicamente ativo devido à presença das enzimas necessárias para a produção de energia através da respiração aeróbica e anaeróbica (glicólise). Devido à baixa capacidade do espermatozoide equino em metabolizar carboidratos mais complexos e outros açúcares, a sua principal fonte de energia é a glicose presente no meio extracelular. Sendo assim, a célula espermática dos equinos é mais dependente da respiração aeróbica do que da anaeróbica (Hafez, 2000; Davies-Morel, 1999).

Mann et al (1963) observaram que a adição de substratos metabolizáveis ao meio diluidor aumentou a captação de oxigênio pelos espermatozoides dos asininos de forma superior ao que observou-se nos espermatozoides de equinos. Desta forma, a respiração e a motilidade das células espermáticas dos equinos declinaram de forma mais rápida que as dos espermatozoides de asininos. Portanto, aos oito dias de armazenamento, os espermatozoides asininos apresentaram maior atividade respiratória e melhor motilidade que os espermatozoides dos garanhões,

demonstrando maior eficácia da respiração aeróbica na espécie asinina quando comparada à espécie equina.

A respiração aeróbica produz quantidades significativas de espécies reativas de oxigênio, que provocam aumento na permeabilidade da membrana plasmática, em virtude da peroxidação lipídica. Entretanto, antioxidantes presentes no plasma seminal promovem o balanço entre a produção e a neutralização das espécies reativas de oxigênio em condições fisiológicas (Davies-Morel, 1999; Kankofer et al, 2005). Miró et al (2005) observaram maior produção de L-lactato nos ejaculados de boa qualidade de jumentos Catalões; sendo assim, a taxa de produção de L-lactato pode ser um bom indicador da qualidade seminal nesta espécie.

Os espermatozoides dos mamíferos são liberados do testículo ainda incapazes de interagir com o oócito, adquirindo a capacidade fecundante apenas após sofrerem um processo complexo 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 (Töpfer-Petersen et al., 2005).

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 denominada glicocálice (Gadella et al, 2001). O processo de capacitação consiste na remoção do glicocálice, de forma a promover a exposição dos sítios de receptores e o efluxo de colesterol da membrana plasmática. Este processo causa uma desestabilização da membrana plasmática e alteração de sua permeabilidade, principalmente aos íons. Nos equinos, como a quantidade de colesterol na membrana é alta, a capacitação ocorre mais lentamente do que nas espécies que possuem menor quantidade de colesterol, como os bovinos (Davies-Morel, 1999; Gadella et al, 2001). Durante a capacitação, ocorre ainda remoção de componentes que cobrem a cauda, de forma a evitar que haja restrição da motilidade hiperativa do flagelo. Outras mudanças ocorrem também nas porções caudal e rostral da cabeça do espermatozoide, precedendo a reação acrossômica, bem como nas peças intermediária e principal, antecedendo a hipermotilidade (Amann e Graham, 1993).

O processo de capacitação espermática pode ser induzido *in vitro*, pela adição de substâncias que sequestram o colesterol da membrana plasmática. Assim, Cross (1999) observou perda de 89% do colesterol da membrana plasmática de espermatozoides humanos quando da adição de metil- β -ciclodextrina. O mesmo foi observado por Jepsen (2010), ao relatar aumento do percentual de células que sofreram reação acrossômica, de 12,6 para 93,5%, acompanhando a adição de metil- β -ciclodextrina ao sêmen de jumentos após o descongelamento.

Entretanto, ao realizar o mesmo procedimento utilizando o sêmen de garanhões, o aumento foi de 3,27 para 22,5%, inferior ao observado para as células espermáticas de jumentos.

A reação acrossômica se inicia após a primeira ligação do espermatozoide ao oócito. A membrana plasmática se funde com a membrana acrossomal em vários locais e libera as enzimas hidrolíticas presentes no acrossoma. Estas enzimas são responsáveis por dissolver a matriz da zona pelúcida e permitir a entrada do espermatozoide no espaço perivitelínico (Hafez e Hafez, 2000; Gadella et al., 2001).

2.1.2. Composição do plasma seminal dos equídeos

A porção fluida do sêmen, denominada plasma seminal, é composta por uma mistura de secreções oriundas dos testículos, epidídimos e glândulas sexuais acessórias. O plasma seminal serve de veículo para que os espermatozoides ejaculados alcancem o sistema genital feminino, fornece substrato às células espermáticas, além de ter um importante papel no processo de maturação espermática pós-testicular (Töpfer-Petersen et al., 2005). 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). Além disto, o plasma seminal é um modulador expressivo da resposta inflamatória no ambiente uterino (Alghamdi et al., 2004).

Segundo Tischner e Kosiniak (1992), a ejaculação nos garanhões ocorre em jatos, que podem variar de quatro a treze, sendo composta, em média, por oito. Magistrini (2000) caracterizou os jatos dos ejaculados dos equinos, contendo de cinco a oito jatos, sendo sua composição variável entre os mesmos. Kosiniak (1975) demonstrou que o ejaculado do garanhão é formado por seis a nove frações consecutivas, sendo que aproximadamente 70% dos espermatozoides estão presentes nos três primeiros jatos. Tischner et al. (1974) coletaram os jatos do sêmen de cavalos, individualmente, em tubos separados e demonstraram que os jatos iniciais (1 a 3) continham 80% do total de espermatozoides do ejaculado, estando 40% no primeiro, 25% no segundo, e 15% no terceiro jato.

Carvalho (2011) caracterizou os jatos que compõem a fração rica em espermatozoides do ejaculado de jumentos. Esta fração foi composta por três jatos que não diferiram entre si quanto à motilidade e vigor espermáticos; entretanto, observou-se tendência de redução destes parâmetros do primeiro para o terceiro jato. A concentração espermática foi de $955,56 \times 10^6$, $725,56 \times 10^6$ e $280,56 \times 10^6$ para os jatos um, dois e três, respectivamente, quando observou-se redução significativa do número de espermatozoides por mL entre os três jatos que compunham a fração espermática rica.

Em relação ao plasma seminal asinino, não há relatos na literatura quanto à sua composição protéica. As diferenças relatadas entre o plasma seminal desta espécie em relação ao de garanhões são:

menor quantidade de magnésio (Morais et al., 1994), maior quantidade de frutose (Trimeche, 1996) e de triglicérides e proteínas totais (Pal et al., 2009).

Mann et al. (1963) caracterizaram as frações do ejaculado asinino e observaram ser o mesmo composto por cinco frações, sendo a primeira, a pré-espermática, as três intermediárias (frações ricas em espermatozoides) e a última, a fração pós-espermática. A primeira fração, ou pré-espermática, era constituída por um líquido transparente, com volume de 2 a 8 mL e, praticamente, livre de espermatozoides, ergotionina e ácido cítrico. Entretanto, apresentava concentrações consideráveis de ácido láctico (12mg/100 mL), além de grande quantidade de cloreto (correspondente a 850mg NaCl/100 mL). As frações dois, três e quatro, constituíam a fração rica em espermatozoides e apresentavam as mesmas características: aspecto leitoso e coloração amarelada, alta concentração espermática e de ergotionina, sendo as concentrações de ácido láctico similares àquelas encontradas na fração pré-espermática, porém com menores valores de cloreto (correspondente a 744mg NaCl/100mL). Segundo, ainda, estes autores, as glândulas vesiculares pareciam não participar da composição da fração rica devido à baixa concentração de ácido cítrico encontrado, oriundo destas glândulas. Os volumes encontrados foram de 9, 17 e 9 mL, respectivamente para as frações dois, três e quatro. A fração cinco, ou pós-espermática, era constituída, principalmente, por secreção das glândulas vesiculares, com grande

quantidade de ácido cítrico (21,5mg/100mL) e ácido láctico (89mg/100mL), observando-se, ainda, presença de pequena quantidade de células espermáticas. Esta fração apresentava uma aparência gelatinosa.

As proteínas identificadas no plasma seminal incluem hormônios, enzimas, inibidores de proteinases, fatores de crescimento, além de proteínas e glicoproteínas de natureza e funções ainda desconhecidas (Töpfer-Petersen et al., 2005). A concentração de proteínas no plasma seminal dos equinos é relativamente baixa (10 mg/ml), quando comparado à de outros mamíferos (20 a 60 mg/ml).

A identificação e caracterização bioquímica das proteínas do plasma seminal dos equinos tem sido foco de muitos estudos; entretanto, pouco se sabe a respeito de sua origem e funções específicas. Calvete et al. (1994) caracterizaram oito proteínas do plasma seminal do garanhão, (HSPs; HSP-1 a HSP-8), com peso molecular entre 14 e 30 KDa. As proteínas HSP-1 e HSP-2 corresponderam de 70 a 80% da composição protéica do plasma seminal do garanhão. Com exceção da HSP-4, todas as proteínas descritas parecem se ligar à superfície espermática no momento da ejaculação.

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 das proteínas seminais (Von Fellenberg et al., 1985). Proteínas com peso

molecular entre 13 e 122 kDa foram detectadas por Amann et al (1987). Brandon et al. (1999) utilizando eletroforese bidimensional identificaram 14 proteínas principais, estando algumas delas correlacionadas com a fertilidade individual dos garanhões.

A concentração total de proteínas, no ejaculado equino, é menor na fração pré-espermática e maior na fração rica em espermatozoides (Koskinen et al., 2002). Ao isolar e identificar as proteínas do ejaculado equino fracionado, Kareskoski et al (2005) encontraram maior quantidade de HSP-1, HSP-2 e HSP-4, presentes nas três frações estudadas, porém com variações significativas de concentração entre garanhões. A quantidade de HSP-2 observada foi maior na fração rica em espermatozoides.

O plasma seminal é uma rica fonte de antioxidantes com potencial de proteger os espermatozoides do ataque oxidativo durante a estocagem. Os principais antioxidantes encontrados no sêmen dos garanhões são as enzimas glutathione peroxidase, superóxido dismutase e a catalase, que controlam, fisiologicamente, o balanço entre produção e neutralização das espécies reativas ao oxigênio (Kankofer et al., 2005). A atividade da enzima superóxido dismutase no plasma seminal de jumentos e garanhões é maior do que a observada em várias espécies de mamíferos, devido, provavelmente, à sua origem, das ampolas dos ductos deferentes, que são grandes e bem desenvolvidas nestas espécies. Observa-se ainda, que a atividade da enzima superóxido dismutase é de três a cinco vezes maior

no plasma seminal de jumentos em relação ao que observa-se no plasma seminal de equinos (Mennella e Jones, 1980).

Pesch et al (2006) mensuraram a atividade de diversas enzimas no plasma seminal de 72 garanhões, correlacionando-as com algumas variáveis utilizadas para avaliação do sêmen. A enzima lactato desidrogenase (LDH), foi significativamente correlacionada com a motilidade progressiva, percentual de espermatozoides vivos e patologia espermática, mostrando ser o melhor indicador enzimático para a qualidade seminal nos equinos. As atividades das enzimas fosfatase alcalina (FA), fosfatase ácida (FAC), aspartato aminotransferase (AAT) e γ -glutamyltransferase (GGT), bem como a concentração dos microelementos ferro e zinco correlacionou-se negativamente com o volume de sêmen, embora estivesse positivamente correlacionada com a concentração espermática. Tais observações podem indicar uma origem testicular ou epididimária destas enzimas. Demonstrou-se, além disto, uma correlação positiva entre a concentração de cálcio total e ionizado e de cobre ao volume de sêmen, indicando que estas substâncias são, principalmente, liberadas pelas glândulas sexuais acessórias.

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

A membrana plasmática da célula espermática é constituída por uma dupla camada lipídica, entremeada por

proteínas integrais e periféricas, num modelo denominado mosaico fluido, proposto por Singer e Nicolson (1972). Apesar de haver consideráveis variações entre as diferentes espécies de mamíferos, a membrana plasmática, geralmente, é composta por, aproximadamente, 70% de fosfolipídios, 25% de lipídios neutros (colesterol) e 5% de glicolipídios (Flesch e Gadella, 2000).

Os fosfolipídios se organizam de maneira que os terminais hidrofóbicos se agreguem, sendo que as regiões hidrofílicas se voltam internamente no meio intracelular e externamente no meio extracelular, em ambas as camadas da membrana, de forma a permitir uma permeabilidade seletiva através da mesma (Graham, 1996). As proteínas presentes na membrana plasmática podem ser classificadas como periféricas, quando possuem fraca ligação aos lipídios da membrana, ou integrais, quando apresentam interação intensa com a mesma (Davies-Morel, 1999).

A membrana plasmática dos espermatozoides é compartimentalizada e organizada em domínios. Os domínios da peça intermediária e peça principal são separados entre si e da cabeça da célula espermática por arranjos lineares de proteínas transmembranas que formam o anel posterior. Já na região da membrana plasmática que envolve a cabeça do espermatozoide, os domínios possuem uma divisão funcional e estrutural, sendo denominados região apical, pré-equatorial, equatorial e pós-equatorial (Flesch e Gadella, 2000).

Além da distribuição assimétrica dos lipídios, outros fatores participam na determinação dos domínios: as interações lipídio-lipídicas, inibindo a difusão lateral destas associações; a imobilidade de lipídios devido à interação com proteínas ancoradas ao citoesqueleto; as barreiras protéicas à difusão intrarregional devido a partículas estacionárias transmembranas; e a solubilidade seletiva dos lipídios e proteínas, variável de acordo com a composição lipídica dos compartimentos (Parks e Graham, 1992). Além da organização lateral da membrana plasmática em domínios, ocorre também uma compartimentalização vertical devido a diferenças na composição entre as camadas lipídicas. Os lipídios neutros ou com carga positiva tendem a permanecer na face extracelular da membrana, enquanto os fosfolipídios aniônicos se encontram na face citoplasmática (Gadella et al., 2001).

Devido à grande quantidade de ácidos graxos insaturados, os espermatozoides dos mamíferos são propensos a sofrer estresse oxidativo (Kodama et al., 1996). Mesmo durante a sua passagem pelo sistema genital feminino, os espermatozoides são expostos a espécies reativas ao oxigênio, secretadas pelos leucócitos; entretanto, o ambiente anaeróbico existente no útero reduz os danos causados pelas mesmas (Foote et al., 2002). As células espermáticas também são responsáveis pela produção de espécies reativas ao oxigênio, devido à atividade flagelar. Assim, embora um processo moderado de peroxidação seja um mecanismo capaz de induzir a capacitação espermática, uma peroxidação excessiva

pode causar danos à membrana plasmática e resultar em queda da motilidade e da capacidade fertilizante do sêmen. Esta pode aumentar, ainda, a permeabilidade da membrana com redução subsequente da atividade metabólica da célula (Aitken e Baker, 2004).

A redução da temperatura causa transição de fase nos lipídios da membrana que, inicialmente, passam do estado fluido normal para o estado líquido cristalino, no qual as cadeias dos ácidos graxos se tornam desordenadas. Após uma redução mais acentuada da temperatura, os lipídios saem do estado líquido cristalino para a forma de gel, quando as cadeias de ácidos graxos se tornam reordenadas de maneira paralela, produzindo uma estrutura rígida (Davies-Morel, 1999). Diferentes lipídios tem temperaturas de transição distintas; assim, alguns deles irão se agregar em domínios sob a forma de gel, excluindo, portanto, outros que ainda permaneçam 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 (Amann e Graham, 1993).

As membranas que apresentam uma alta relação colesterol:fosfolípides são mais resistentes ao choque pelo frio. Assim, como nos espermatozoides dos equinos e suínos essa relação é baixa, as células dessas espécies são mais sensíveis ao resfriamento (Amann e Pickett, 1987; Valle e Silva Filho, 2002).

Serres et al. (2002) observaram maior número de células espermáticas apresentando a membrana plasmática íntegra quando o sêmen de jumentos Zamorano-Leonés foi centrifugado para a remoção do plasma seminal, associado ao armazenamento do sêmen a 15°C, em relação ao resfriamento a 4°C ou quando da utilização do ejaculado total.

2.2. Fatores capazes de influenciar a qualidade do sêmen diluído, resfriado e transportado de equídeos

2.2.1. Individualidade do reprodutor

Ao se estudar a fertilidade de éguas, várias fontes de variação devem ser levadas em consideração, sendo o reprodutor dentre elas de extrema importância. Porém, há uma tendência de se atribuir à fêmea os problemas de infertilidade, comprometendo a avaliação criteriosa do macho (Pimentel, 1989; Hammes et al., 1996). Além disto, sob condições adequadas de manejo reprodutivo, garanhões subfêrteis podem ter razoável taxa de potros nascidos, enquanto garanhões com alto potencial de fertilidade podem apresentar baixo desempenho reprodutivo quando submetidos a condições inadequadas de manejo (Hurtgen, 1992).

Um dos principais fatores capazes de afetar a longevidade do sêmen equino durante o armazenamento e transporte é o próprio reprodutor, que pode ser classificado como bom ou ruim quanto à sensibilidade do sêmen ao processo de resfriamento (Brinsko et al., 2000), que não é dependente apenas da qualidade do sêmen fresco mas, principalmente, da composição do plasma seminal e da

membrana plasmática (Aurich, 2005). A sensibilidade individual do sêmen de determinados garanhões ao resfriamento e transporte pode ser tão pronunciada que inviabilize este procedimento; nestes casos, a inseminação artificial somente pode ser realizada com sêmen fresco, o que reduz os benefícios advindos desta biotecnologia em um número considerável de reprodutores (Leeb et al., 2005).

Ao estudarem a influência da época do ano sobre as características comportamentais e o sêmen, Pickett et al. (1970) encontraram diferenças significativas entre ejaculados de um mesmo garanhão e entre ejaculados de diferentes garanhões. Dentre os fatores que podem alterar os índices reprodutivos, a qualidade seminal tem um efeito considerável. Assim, Haag (1959) verificou que melhores índices de concepção eram obtidos por garanhões que apresentavam mais de 50% de motilidade e percentuais de espermatozoides anormais inferiores a 40%. Entretanto, Bielanski (1975) observou excelente fertilidade em garanhões com altos índices de anormalidades morfológicas.

Para a 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. Ao avaliarem o sêmen de jumentos da raça Amiata, submetido ao resfriamento, Rota et al (2008) observaram efeito do reprodutor sobre as características de motilidade total e progressiva logo após a diluição do

sêmen até as 72 horas de armazenamento a 5°C, quando observou-se diferenças entre indivíduos quanto ao percentual de redução da motilidade.

Ao trabalhar com jumentos da raça Pêga, no Brasil, Rossi (2008) observou variação individual entre jumentos quanto ao volume de sêmen, concentração espermática por mL, concentração de espermatozoides móveis por mL, número total de espermatozoides por ejaculado e número total de espermatozoides móveis por ejaculado para o sêmen fresco diluído. Quando as coletas foram destinadas ao resfriamento, houve diferença, ainda, na motilidade espermática do sêmen in natura e após diluição e resfriamento. A taxa de concepção por ciclo de éguas inseminadas diferiu também entre os quatro jumentos, variando de 35,71% a 71,43% quando da utilização do sêmen fresco diluído e de 36,21% a 74,47% quando utilizou-se o sêmen resfriado a 5°C por até 12 horas.

Também Carvalho (2011), ao realizar a coleta dos três primeiros jatos de cinco jumentos da raça Pêga, observou diferenças significativas entre os machos quanto ao número de montas por ejaculado, motilidade espermática do sêmen in natura e após diluição, vigor espermático do sêmen in natura, concentração de espermatozoides totais e móveis por mL, assim como no que se refere aos espermatozoides totais e móveis por ejaculado. Entretanto, as diferenças observadas quanto aos parâmetros seminais, entre os reprodutores, não refletiram na taxa de concepção obtida quando da

inseminação de éguas com sêmen diluído em diluidor de leite em pó desnatado – glicose e resfriado a 5°C.

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. Entretanto, Amann (2005) ao examinar 67 trabalhos publicados no ano de 2003 envolvendo dados de fertilidade, principalmente da espécie equina, detectou falhas em 76% (51/67) destes, devido a uma ou mais razões. Dentre elas, vale salientar o reduzido número de machos utilizados (inferior a três); a seleção de machos superiores quanto aos parâmetros reprodutivos; o pequeno número de fêmeas utilizadas por tratamento; e, finalmente, a demonstração dos resultados através da taxa de concepção total ao final da estação reprodutiva, o que pode aproximar dois machos com potencial de fertilidade bastante diferente.

2.2.2. Tipo de coleta do sêmen

A coleta do sêmen dos equídeos pode ser realizada utilizando-se diferentes modelos de vaginas artificiais fechadas, projetadas para a coleta do ejaculado total, ou utilizando modelos abertos, quando se pretende realizar a coleta fracionada do sêmen, tornando possível o descarte da fração pré-espermática, que contém grande quantidade de bactérias. Salienta-se, ainda, ser este tipo de coleta do sêmen mais higiênica, além de possibilitar o descarte, também, da fração gelatinosa (Love, 1992; Sieme et al., 2004). Independentemente do tipo de vagina artificial utilizada, esta deve

propiciar pressão e temperatura adequadas para se realizar uma boa coleta. A temperatura ideal é de 42 a 45°C no interior da vagina artificial, com uma pressão de, aproximadamente, 66 mm/Hg no momento da coleta do sêmen (Tischner e Kosiniak, 1992).

O procedimento de coleta do sêmen parece estar entre os principais fatores capazes de influenciar a sensibilidade do sêmen equino ao resfriamento e armazenamento, visto que este pode afetar a composição do plasma seminal e a concentração espermática (Aurich, 2008). O aumento no número de montas por ejaculado e no tempo necessário até a ejaculação resulta em aumento no volume e número de espermatozoides totais e redução da concentração espermática por mL do ejaculado. Portanto, a coleta deve ser realizada de maneira a obter-se ejaculação completa com uma única monta e mínima estimulação sexual do garanhão, visando-se a obtenção de um ejaculado com volume relativamente baixo e alta concentração espermática (Loomis, 2006).

A utilização da coleta fracionada do sêmen tem sido um dos métodos de concentração do sêmen, ao lado da centrifugação e da utilização de filtros apropriados. Além disto, visa à redução dos efeitos deletérios exercidos pelo plasma seminal às células espermáticas durante o armazenamento do mesmo. Assim, Sieme et al (2004), ao compararem a coleta fracionada com a coleta total em garanhões, observaram que a fração rica em espermatozoides representou 45,3% do volume total, embora respondesse por 73,2% dos espermatozoides totais do ejaculado.

Em jumentos, Mello (1998), observou até 94% dos espermatozóides totais em 57,6% do volume na fração rica do ejaculado. Além disto, Tischner e Kosiniak (1992), relataram que 41% dos ejaculados coletados de maneira fracionada, utilizando vagina artificial aberta, apresentaram-se livres de bactérias.

Ainda, Sieme et al. (2004) observaram que a coleta da fração rica, associada à centrifugação do sêmen de equinos respondeu por uma maior motilidade progressiva e integridade das membranas espermáticas após o descongelamento, quando comparada à utilização da fração rica não centrifugada, bem como à centrifugação do ejaculado total. Entretanto, Mello (1998), não obteve vantagens quando da diluição da fração rica em espermatozóides em relação ao ejaculado completo, no que se refere à manutenção das características físicas do sêmen durante o resfriamento.

Ao comparar os espermatozoides oriundos do ejaculado total centrifugado ou não aos oriundos da fração rica, quanto à longevidade, Dalmau (2003) observou maior viabilidade das amostras armazenadas sem o plasma seminal. Entretanto, uma motilidade progressiva igual ou superior a 30% foi mantida por 37,05 horas quando o sêmen foi centrifugado, por 27,90 horas quando da utilização da fração rica em espermatozóides e por 22,30 horas quando utilizou-se o ejaculado total.

2.2.3. Frequência de coletas

Para uma máxima eficiência reprodutiva, os ganhanhos devem ser

manejados de maneira a manter comportamento sexual normal e boa libido, permitindo coletas de sêmen de boa qualidade, através de métodos adequados e a intervalos e frequências ideais. É comum, em programas de inseminação artificial, a realização de coletas de sêmen em dias alternados; entretanto, regimes de coleta diários são frequentes quando se trata de ganhanhos muito requisitados (Pickett et al., 1975).

Gastal et al (1997) ao realizarem coletas duplas semanais com intervalo de quatro horas entre estas, em jumentos durante 12 meses, observaram diferença apenas no número de espermatozóides totais entre as coletas duplas consecutivas, que variou de 10,6 bilhões de células no primeiro ejaculado para 5,8 bilhões no segundo. Neste mesmo estudo, quando os parâmetros foram comparados em relação aos diferentes meses do ano, observou-se, apenas, uma variação do pH do sêmen, que apresentou-se inferior durante os meses do verão.

Em um estudo realizado por Pickett et al. (1970) quando cinco ganhanhos foram, similarmente ao trabalho mencionado anteriormente, submetidos a um regime de coletas duplas de sêmen por semana, a intervalos de quatro horas durante 12 meses, observou-se diferenças entre o primeiro e o segundo ejaculados, assim como entre os diferentes meses do ano. A concentração espermática no primeiro ejaculado foi de 437,8 milhões de células/mL, sendo de 211,9 milhões na segunda coleta. O número total de espermatozoides foi de 9365,1 e 4659,3 milhões de células, respectivamente, para o primeiro e segundo ejaculados.

No que se refere ao pH do sêmen, foi inferior no primeiro ejaculado (7,43 e 7,60, respectivamente). Já o número de montas por ejaculado e o tempo de reação foram menores durante a segunda coleta.

Ao compararem dois diferentes regimes de coletas, sendo duas coletas com intervalo de uma hora entre elas, em dias alternados, ou uma coleta diária, durante três meses, Sieme et al (2004) observaram que o primeiro ejaculado do regime em dias alternados diferiu do sêmen coletado diariamente quanto à concentração espermática (178 e 147 milhões de espermatozoides/mL, respectivamente), motilidade progressiva após armazenamento a 5°C por 24 horas (51,9 e 43,8%, respectivamente), bem como ao percentual de defeitos de peça intermediária (1,7 e 3,3%, respectivamente).

Em um estudo retrospectivo utilizando dados de 71 garanhões coletados em centrais de inseminação artificial, Sieme et al. (2004) relataram, ainda, uma maior taxa de nascimento associada a garanhões submetidos a uma maior frequência de coletas, ou seja, igual ou maior a uma coleta de sêmen por dia quando comparados àqueles submetidos a uma frequência menor ou igual a 0,5 e de 0,5 a uma coleta por dia durante a estação reprodutiva (70,6, 55,6 e 60,9, respectivamente). Quanto ao intervalo entre coletas, os garanhões coletados a intervalos de 0,5 a um dia apresentaram maior taxa de nascimento (77,4%), quando comparados aos demais grupos: um a 1,5 dias (61,1%), 1,5 a dois dias (66,8%), dois a 2,5 dias (62,4%) e maior que 2,5 dias (52,8%). Entretanto,

a idade dos garanhões e o número de éguas inseminadas por reprodutor, exerceram efeito significativo sobre as taxas de concepção e nascimento.

2.2.4. Tempo para a diluição do sêmen

Os espermatozoides dos equinos tendem a se agrupar ou aglutinar no sêmen fresco; desta forma, o sêmen deve ser diluído o mais rápido possível após a coleta, especialmente os ejaculados contendo um grande número de espermatozoides por mL (Pickett e Amann, 1987). A rápida diluição do sêmen não visa apenas à inibição da aglutinação, mas também à redução dos efeitos deletérios causados pela exposição prolongada aos componentes do plasma seminal, de forma a proporcionar uma maior sobrevivência espermática (Loomis, 2006).

A diluição do sêmen deve ocorrer o mais rapidamente possível após a coleta, principalmente, quando se trata de ejaculados contendo alta concentração espermática e baixo volume de sêmen, a fim de reduzir-se o acúmulo de subprodutos tóxicos do metabolismo espermático (Pickett e Amann, 1987). O tempo decorrido entre a coleta e a diluição é citado em alguns trabalhos como sendo de até três minutos (Douglas-Hamilton et al, 1984) e de dois a cinco minutos (Brinsko e Varner, 1992). Já em estudo realizado por Palmer (1984), quando avaliou-se a sobrevivência espermática de 36 ejaculados diluídos em até dois ou dez minutos após a coleta, observou-se uma superioridade do sêmen diluído em até dois minutos após a ejaculação, que não diferiu, entretanto, da sobrevivência

espermática observada no sêmen diluído no momento da ejaculação, com o diluidor sendo colocado no recipiente de coleta do sêmen.

2.2.5. Diluidores utilizados para o sêmen de equídeos

Um diluidor de sêmen adequado deve ser capaz de prolongar a vida dos espermatozoides via estabilização dos sistemas enzimáticos e manutenção da integridade das membranas; fornecer proteção das células contra condições ambientais desfavoráveis como o choque pelo frio e efeitos prejudiciais causados pelo plasma seminal e subprodutos tóxicos do metabolismo. Devem, ainda, ter pressão osmótica compatível com a dos espermatozoides, balanço adequado de elementos minerais, devem ser livres de microrganismos patogênicos, promover baixa irritabilidade ao sistema genital feminino, possuir baixo custo e ser de fácil aquisição (Pickett e Amann, 1987; Pickett, 1993; Silva Filho, 1994).

A osmolaridade do sêmen de garanhões é de, aproximadamente, 300 mOsm (Pickett et al., 1976). A osmolaridade dos diluidores depende da combinação dos constituintes e da taxa de eletrólitos e não eletrólitos presentes no meio (Pickett e Amann, 1987). Dentro deste contexto, ao comparar o efeito da pressão osmótica de diluidores contendo glicose, lactose, rafinose e leite sobre a motilidade espermática de garanhões, Gonzales et al. (1979), observaram maior percentual de espermatozoides móveis em diluidores apresentando osmolaridade entre 300 e 400 mOsm.

Os diluidores possuem várias funções, como o aumento do volume total da dose inseminante, fornecimento de nutrientes para a produção de energia, proteção dos espermatozoides contra o choque térmico, controle das alterações de pH, manutenção do balanço osmótico, prolongamento da viabilidade dos espermatozoides e inibição do desenvolvimento bacteriano devido à adição de antibióticos (Pickett et al., 1975; Brinsko e Varner, 1993). A utilização de diluidores permite o resfriamento, armazenamento e transporte a longas distâncias, seja do sêmen resfriado ou congelado. Torna-se possível, ainda, uma melhoria da viabilidade do sêmen de reprodutores subfêrteis (Blanchard et al., 1987).

O pH dos diluidores de sêmen deve ser próximo da neutralidade. O pH seminal normalmente varia entre 7,4 e 7,6, sendo influenciado pela secreção das glândulas sexuais acessórias; desta maneira, um maior volume de sêmen associado à baixa concentração espermática tende a aumentar o pH do ejaculado (Katila, 1997).

Ao longo dos anos vários diluidores tem sido propostos visando o resfriamento e armazenamento do sêmen de equídeos, combinando diversos componentes (açúcares, eletrólitos, tampões, gema de ovo, leite, albumina sérica bovina). Muitos estudos foram realizados comparando a eficiência de diluidores com diferentes composições para a manutenção da viabilidade espermática. Entretanto, poucos são aqueles que refletem a real capacidade fertilizante, uma vez que a maioria baseia-se nos parâmetros de motilidade espermática (Katila, 1997). Como a redução da

fertilidade resultante do armazenamento in vitro do sêmen pode não corresponder exatamente ao decréscimo na motilidade, a única maneira precisa de se avaliar a capacidade fertilizante do sêmen é através do teste de fertilidade in vivo (Varner et al., 1987).

2.2.5.1. Componentes dos diluidores

2.2.5.1.1 Açúcares

A energia é utilizada pelo espermatozoide para iniciar processos catabólicos como a glicólise, para manter a motilidade e o balanço iônico adequado, dentre outras funções. O espermatozoide conta principalmente com substratos extracelulares para suprir seus requerimentos energéticos. Esta energia é oriunda de carboidratos como a glicose e a frutose. Entretanto, a célula espermática não é capaz de metabolizar todos os açúcares ou carboidratos mais complexos (Mann, 1964; Hipakka e Hammersdedt, 1978).

Os açúcares atuam na desidratação celular através da pressão osmótica, reduzindo a quantidade de água que pode vir a se congelar no interior da célula e assim, na proteção contra as injúrias causadas pela formação dos cristais de gelo. Tem sido descrito que alguns açúcares, além de servirem como substrato energético para os espermatozoides durante a incubação, conferem proteção à membrana plasmática dos espermatozoides durante o congelamento e o descongelamento, por meio de interações diretas com a membrana (De Leeuw et al., 1993).

Produtos metabolizáveis como frutose, lactose, rafinose, sacarose, piruvato e,

mais comumente, glicose fornecem substratos adequados para a produção de ATPs pelos espermatozoides (Katila, 1997). Arns, Webb e Kreider (1987) compararam a eficiência na manutenção da motilidade e fertilidade do sêmen equino diluído em diluidores à base de albumina sérica bovina contendo lactose, rafinose, sacarose, arabinose ou galactose e armazenado a 37°C ou 5°C por 24 horas. Os autores observaram que os diluidores contendo arabinose ou galactose foram prejudiciais à viabilidade espermática, diferindo dos demais. Além disto, não observou-se diferenças quanto à motilidade ou fertilidade do sêmen diluído nos diluidores contendo lactose, rafinose ou sacarose.

Independentemente da composição do meio diluidor, as fontes de energia utilizadas nos diluidores destinados ao processamento do sêmen de jumento são: glicose (Krause e Grouve, 1967; Leite, 1994; Boeta e Quintero, 2000; Rozas, 2005; Rossi, 2008; Miró et al., 2009; Jepsen, 2010; Carvalho, 2011), lactose (Krause e Grouve, 1967; Palhares et al., 1986; Silva, 1988; Ferreira, 1993; Castejón, 2005; Rozas, 2005; Canisso, 2008; Carvalho, 2011), glicina (Rossi, 2008), rafinose (Krause e Grouve, 1967), associação de glicose e lactose (Papa et al., 1999; Rozas, 2005; Diaz et al., 2009; Jepsen, 2010) e associação de glicose, lactose e rafinose (Serres et al., 2002; Rozas, 2005; Vidament et al., 2009).

2.2.5.1.2. Macromoléculas

2.2.5.1.2.1. Gema de ovo

A utilização da gema de ovo em meios diluidores para o sêmen de equídeos tem sido proposta desde a década de 1940 (Berliner, 1942). Dentre as frações da gema de ovo, tem sido descrito que as lipoproteínas de baixa densidade compõem a fração efetiva na proteção espermática durante os períodos críticos de armazenamento (Parks e Graham, 1992).

Foulkes (1977) demonstrou em touros, utilizando marcadores radioativos, que lipoproteínas da gema de ovo foram incorporadas pelas células à membrana espermática, não sendo removidas mesmo após lavagens sucessivas. Além disso, observou-se que a fração lipoprotéica de baixa densidade da gema de ovo foi a que conferiu melhores resultados quanto à preservação da motilidade espermática pós-descongelamento.

Manjunath et al. (2002) demonstraram que as lipoproteínas de baixa densidade (low density lipoprotein - LDL), isoladas da gema de ovo, se ligam às proteínas presentes no plasma seminal de touros (BSP), sendo esta ligação rápida, específica e saturável. As LDLs tem capacidade de se ligarem a um grande número de BSPs (cada LDL pode se ligar a 240 – 555 BSPs), formando complexos estáveis mesmo após o descongelamento. Desta maneira, a desestabilização da membrana da célula espermática causada pelo efluxo de colesterol e fosfolipídios, através da ligação das BSPs à membrana plasmática, é minimizada pela ligação destas proteínas às lipoproteínas da gema de ovo. Proteínas homólogas às BSPs foram descritas também no plasma

seminal de garanhões, e possuem, da mesma forma como no touro, capacidade de se ligar às LDLs (Ménard et al., 2003).

Jepsen et al. (2010) relataram prejuízos na fertilidade do sêmen de asininos ao adicionarem 20% de gema de ovo ao diluidor de congelamento. Estes autores sugeriram que a alta concentração de gema de ovo, em virtude, provavelmente, da grande quantidade de colesterol presente na mesma, exerceu uma grande inibição da capacidade fertilizante dos espermatozoides. Comprovação neste sentido foi obtida pela adição de β metil-ciclodextrina, substância capaz de sequestrar o colesterol, ao diluidor, quando verificou-se aumento significativo da taxa de gestação de éguas inseminadas com o sêmen congelado de jumentos.

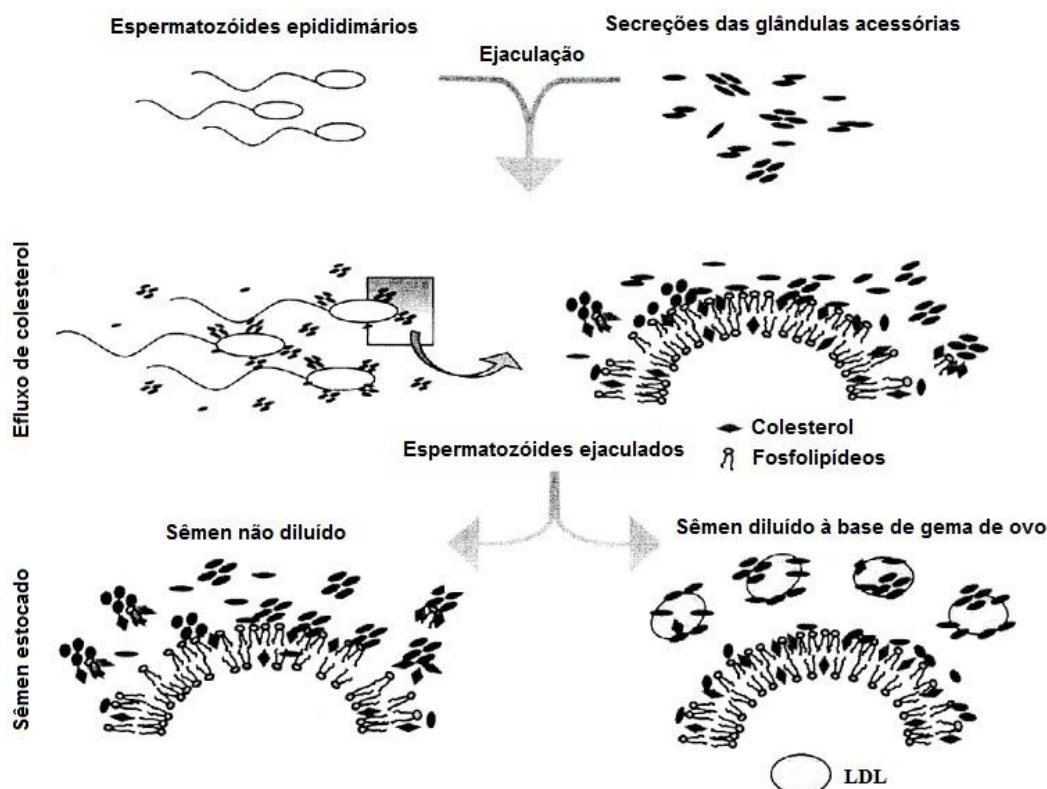
Prejuízos na fertilidade também foram observados por Carvalho (2011), ao utilizar um diluidor contendo 20% de gema de ovo para o resfriamento do sêmen de asininos coletado de forma fracionada, com utilização apenas da fração rica em espermatozoides. As taxas de gestação obtidas neste experimento foram de 4,76% (1/21) para as éguas inseminadas com sêmen diluído em diluidor de lactose-gema de ovo (20% de gema) e de 56,52% (13/23) para as éguas inseminadas com sêmen diluído em diluidor de leite em pó desnatado-glicose.

Ao utilizarem, também, um diluidor contendo 20% de gema de ovo (lactose – gema de ovo) para a diluição do sêmen de asininos, Palhares et al.

(1986) obtiveram taxa de concepção, ao primeiro ciclo, de 57% quando da inseminação de jumentas com o sêmen fresco diluído. Utilizando o mesmo diluidor para a inseminação de éguas com sêmen fresco diluído de jumentos, Silva (1988) obteve taxas de concepção, ao primeiro ciclo, de 52,4%, 52,2% e 68,5% e taxas de concepção total de 68,3%, 82,3% e 92,1%, durante três estações reprodutivas consecutivas. Da mesma maneira, Ferreira (1993) utilizando, também, o diluidor lactose – gema de ovo obteve taxas de concepção por ciclo de 82,7% para éguas

inseminadas com sêmen fresco diluído, de 80,0% para éguas inseminadas com sêmen resfriado a 5°C por 24 horas e de 75,9% quando o sêmen foi resfriado a 5°C por 48 horas. Rossi (2008), também utilizando um diluidor contendo 20% de gema de ovo para o resfriamento do sêmen de asininos, porém coletado de forma total, obteve taxas de concepção de 47,06% (48/102) e 52,69% (49/93), respectivamente, para éguas inseminadas com sêmen diluído nos diluidores glicina - gema de ovo e leite em pó desnatado - glicose, ambos resfriados a 5°C por 12 horas.

Figura 2.1: Ligação das LDLs da gema de ovo aos espermatozoides.



Adaptado de Manjunath et al. (2002)

As taxas de concepção obtidas por Palhares et al. (1986), Silva (1988), Ferreira (1993) e Rossi (2008), apresentadas na tabela 2.1, foram diferentes daquelas relatadas por Carvalho (2011) e Jepsen et al. (2010), sendo que todos os autores utilizaram diluidores contendo 20% de gema de ovo.

Neste sentido, Rota et al. (2012) compararam a fertilidade de jumentas inseminadas com sêmen asinino diluído em diluidor comercial (INRA96), acrescido de 2% de gema de ovo, contendo glicerol ou etilenoglicol. Após o descongelamento do sêmen, as amostras foram rediluídas em INRA96 ou plasma seminal, quando obteve-se taxas de concepção por ciclo de 61,54% (8/13) quando o sêmen foi diluído em diluidor contendo glicerol e rediluído em plasma seminal; 23,08% (3/13) para o diluidor contendo glicerol e rediluição em INRA96; 25% (2/8) para as amostras contendo etilenoglicol e rediluídas em INRA96; e 20% (1/5) para o diluidor contendo glicerol sem posterior rediluição. Neste estudo, observou-se uma tendência ($p=0,055$) de superioridade para o sêmen diluído em diluidor contendo glicerol, com posterior rediluição em plasma seminal.

Mello et al. (2000) compararam a eficiência de um diluidor contendo 10 % de gema de ovo com a de um diluidor de leite em pó desnatado-glicose para a diluição da fração rica em espermatozóides ou do ejaculado total

de asininos, quanto à manutenção da motilidade e vigor espermáticos e a quantidade de anormalidades. Independentemente da fração do ejaculado utilizada, o diluidor de ovo foi superior ao de leite quanto à motilidade total e progressiva e vigor em todos os períodos de armazenamento. Além disto, observou-se maior quantidade de defeitos espermáticos nos espermatozóides estocados no diluidor de leite no terceiro e sexto dias após a coleta.

Cottorello et al. (2002) relataram superioridade dos diluidores contendo gema de ovo (3 ou 10%) quando comparados ao diluidor de leite em pó desnatado - glicose em relação à capacidade de manutenção da motilidade e vigor, quando o sêmen de asininos foi resfriado a 0, 5 ou 10°C. As amostras de sêmen diluídas nos diluidores à base de gema de ovo apresentaram motilidade acima de 30% até o terceiro dia de armazenamento, enquanto o sêmen armazenado no diluidor de leite não apresentou espermatozoides móveis no segundo dia de estocagem, sendo esta diferença mais pronunciada nas temperaturas 0 e 5°C. Não observou-se diferença para o diluidor contendo 10% de gema de ovo quanto aos parâmetros observados entre o sêmen armazenado a 0 ou 5°C. Entretanto, o sêmen diluído em diluidor contendo 3% de gema apresentou melhores parâmetros seminais quando armazenado a 5°C em relação ao estocado a 0°C.

Tabela 2.1: Fertilidade de éguas e/ou jumentas inseminadas com sêmen asinino diluído em diluidores contendo gema de ovo.

Autor	Processamento do sêmen	Diluidor	Taxa de concepção
Palhares et al. (1986)	Ejaculado total - Fresco diluído	Lactose – 20% de gema de ovo	57% ao primeiro ciclo (8/14) – jumentas
Silva (1988)	Ejaculado total – Fresco diluído	Lactose – 20% de gema de ovo	52,4 a 68,5% ao primeiro ciclo (durante três estações reprodutivas) - éguas
Ferreira (1993)	Ejaculado total – Fresco diluído, resfriado 5°C/24 horas ou resfriado 5°C/48 horas	Lactose – 20% de gema de ovo	75,9 a 82,7% (por ciclo) – éguas
Rossi (2008)	Ejaculado total – Fresco diluído ou resfriado 5°C/12 horas	Glicina – 20% de gema de ovo	54,55 e 47,06% (por ciclo para o sêmen fresco ou resfriado, respectivamente) – éguas
Jepsen (2010)	Centrifugado - Congelado	Merck II + 20% gema de ovo + 4% glicerol ou 2% etilenoglicol	6,25% (1/15) (por ciclo) – éguas
		EZ Mixin OF + 5% gema de ovo + 2% etilenoglicol	46,5% (20/43) (por ciclo) – éguas
		EZ Mixin OF + 20% gema de ovo + 2% etilenoglicol + 60 mM β -ciclodextrina	58,3% (14/24) (por ciclo) – éguas
Carvalho (2011)	Fração rica em espermatozoides – Resfriado 5°C/até 24 horas	Lactose – 20% gema de ovo	4,76% (1/21) (por ciclo) - éguas

2.2.5.1.2.2. Albumina sérica bovina

A albumina sérica bovina (BSA) atua como um agente antioxidante, reduzindo os efeitos deletérios da peroxidação lipídica sobre a membrana espermática (Alvarez e Storey, 1983). A BSA pode atuar, também, como quelante do cálcio ionóforo, reduzindo sua eficiência em iniciar o processo de capacitação espermática; entretanto, alta concentração desta molécula aumentou a capacitação de espermatozoides bovinos (Parrish et al., 1989).

Kreider et al. (1985) relataram melhor manutenção da motilidade espermática do sêmen equino armazenado durante 24 horas a 37°C em diluidores contendo 3% de BSA. Neste estudo, utilizou-se, como diluidores, o leite desnatado e o plasma seminal dos garanhões, não

observando-se diferenças entre os dois diluidores quanto à manutenção da motilidade na presença da BSA. A superioridade das amostras contendo BSA foi observada logo nos primeiros tempos de avaliação (30, 60 e 120 minutos).

2.2.5.1.2.3. Natureza e papel das diferentes frações do leite

Os diluidores à base de leite são amplamente conhecidos e utilizados, por sua praticidade e eficácia, na proteção dos espermatozoides equinos, durante o resfriamento (Batellier et al., 1997). O leite desnatado, quase livre de lipídeos (0,1%), é tão eficaz quanto o leite total na proteção dos espermatozoides durante o armazenamento a 4°C e durante a criopreservação; portanto, os lipídios

parecem não ser os componentes responsáveis pela proteção advinda do leite (Foote et al., 2002). A lactose, presente no leite de vacas a 4,8%, aproximadamente, pode melhorar a eficiência dos diluidores. Entretanto, este componente sozinho não é suficiente para conferir proteção aos espermatozoides durante armazenamento a 4°C ou durante o processo de criopreservação (Garcia e Graham, 1987).

Neste contexto, Batellier et al. (1997) testaram a eficiência de diferentes frações do leite para a diluição do sêmen de equinos e observaram que uma proteção efetiva às células espermáticas foi conferida por proteínas solúveis (proteínas do soro do leite e β -lactoglobulina) e por proteínas coloidais (caseínas). A adição do fosfocaseinato natural aos diluidores básicos (Leite UHT desnatado, INRA82 e HGLL – solução de sais de Hank acrescida de glicose, lactose, HEPES e BSA) conferiu maior proteção aos espermatozoides quando comparados aos diluidores básicos separados. Entretanto, quando utilizados separadamente, o fosfocaseinato e a β -lactoglobulina promoveram a mesma proteção espermática que os diluidores básicos, não havendo sinergia entre estes. Quanto à fertilidade, a taxa de concepção do sêmen diluído em HGLL acrescido de fosfocaseinato e armazenado a 15°C, sob condições aeróbicas, foi maior que a obtida com o sêmen diluído em INRA 82 a 4°, sob condições de anaerobiose.

Visando identificar o mecanismo através do qual a caseína confere proteção às células espermáticas, Bergeron et al. (2007) diluíram o ejaculado de touros em leite desnatado (aquecido a 95°C por 10 min), leite permeado (leite ultrafiltrado, contendo todos os componentes, com exceção das micelas de caseína) e leite permeado

com adição de caseína. Amostras de sêmen diluído, às 0, 2 e 4 horas de estocagem, foram submetidas ao teste “immunoblotting”, utilizando anticorpos específicos contra as proteínas do plasma seminal bovino BSP-A1, BSP-A2, BSP-A3 e BSP-30-kDa. No sêmen diluído em leite permeado sem caseína, a intensidade das bandas correspondentes às proteínas BSP-A1/A2 e BSP-A3, nos três tempos avaliados, foi de 1,4 a 1,8 vezes maior que aquela encontrada no sêmen diluído em leite desnatado e leite permeado com adição de caseína. Os espermatozoides diluídos em leite permeado apresentaram, ainda, uma maior perda de fosfolipídios e colesterol (12 e 8,9%, respectivamente), enquanto as amostras diluídas em leite desnatado apresentaram perda de 4,9 e 3,6% de fosfolipídios e colesterol, respectivamente. Por sua vez, as células diluídas em leite permeado acrescido de caseína apresentaram uma perda de 3,9% de fosfolipídios e 3,5% de colesterol, demonstrando que os dois últimos tratamentos foram mais eficazes quanto à redução do efluxo de colesterol e fosfolipídios. Ainda neste estudo, não observou-se proteínas do leite ligadas às células espermáticas durante o armazenamento, demonstrando que o mecanismo de proteção conferido pela caseína é similar àquele conferido pela gema de ovo, reduzindo a ligação das proteínas BSPs aos espermatozoides e, assim, o efluxo de fosfolipídios e colesterol da membrana plasmática.

O diluidor de leite em pó desnatado-glicose (LPDG) proposto por Kenney et al. (1975), tem sido amplamente utilizado para a diluição e resfriamento do sêmen de equídeos. Leite (1994) relatou taxas de concepção de 53,12, 70,00 e 67,64% para o sêmen de asininos contendo 200, 400 e 600 milhões de espermatozoides por dose. Carvalho (2011) obteve taxas de

concepção de 41,46 e 47,37% para éguas inseminadas com sêmen de jumentos resfriado a 5°C em diluidor LPDG contendo 400 ou 800 milhões de células espermáticas por dose. Já Rossi (2008), ao utilizar o diluidor LPDG, obteve taxas de concepção de 63,64% para éguas inseminadas com o sêmen de asininos fresco diluído e de 52,69% para éguas inseminadas com o sêmen de asininos resfriado a 5°C por até 12 horas.

2.2.5.1.2.3.1. Vantagens e desvantagens da utilização do leite como diluidor

Os diluidores à base de leite em pó desnatado – glicose, com composição similar ao proposto por Kenney et al. (1975), são muito utilizados pois são de baixo custo, fácil preparação e podem ser armazenados congelados. Além disso, tem sido associados à uma fertilidade aceitável (Aurich, 2008). No entanto, embora os diluidores à base de leite possuam algumas vantagens sobre os demais, a necessidade de aquecimento do leite a 92–95°C, por 10 minutos, consome tempo e constitui uma possível fonte de erro (Pickett, 1993).

A utilização de leite fresco para a diluição do sêmen equino tem como fator limitante a presença da enzima lactenina, tóxica aos espermatozóides. Householder et al. (1981) compararam a percentagem de espermatozóides 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 espermatozóides diluídos no leite previamente aquecido, independentemente da temperatura de armazenamento.

Várias são as modificações na estrutura do leite, induzidas pelo processamento

térmico: aumento no diâmetro das micelas de caseína, desnaturação parcial das proteínas do soro e enzimas, liberação de grupos sulfidrilas (SH) e redução da concentração de minerais devido à absorção de íons pelas micelas de caseína. No entanto, a desnaturação enzimática parece ser a modificação mais importante para a sobrevivência espermática, já que o processamento térmico afeta somente as frações do leite que contém proteínas solúveis (Batellier et al., 1997).

A utilização do leite UHT para a diluição do sêmen de jumentos foi relatada por Boeta e Quintero (2000), quando obtiveram taxas de concepção de 76,50% (13/17) e 54,50% (6/11), respectivamente, para éguas inseminadas com sêmen de asininos diluído em leite UHT ou no diluidor LPDG, ambos resfriados a 5°C por até 48 horas. Segundo estes autores, a utilização do leite UHT é vantajosa por ter este sofrido previamente um processamento de ultrapasteurização, durante o qual a enzima lactenina é inativada.

Também Vidament et al. (2009) utilizaram o leite UHT para a diluição do sêmen de asininos destinado à inseminação de éguas e jumentas e relataram taxas de concepção de 86% (6/7) para jumentas inseminadas com sêmen fresco e de 78% (7/9) para jumentas inseminadas imediatamente após o resfriamento do sêmen a 4°C. Além disso, a taxa de concepção foi de 45% para éguas (33/73) e jumentas (9/20), inseminadas com sêmen resfriado a 4°C por oito horas.

Ao utilizar o leite UHT como diluidor do sêmen de asininos, Rozas (2005) obteve taxas de concepção de 21% (6/28) e 27% (23/85) para jumentas inseminadas com sêmen centrifugado e não centrifugado, respectivamente e resfriado a 15°C. Ao utilizarem o

diluidor INRA 96 para diluir o sêmen não centrifugado e resfriado a 15°C, a taxa de concepção foi de 47,36% (18/38); entretanto, os reprodutores utilizados não foram os mesmos para os diferentes diluidores.

2.2.5.1.3. Estabilizadores de membrana

Vários tipos de componentes tem sido adicionados aos diluidores visando prevenir ou retardar as alterações estruturais e funcionais da membrana plasmática. Dentre eles, destaca-se a utilização da ciclodextrina, um oligossacarídeo macrocíclico, solúvel em água, que contém um centro hidrofóbico capaz de acomodar substâncias apolares. De acordo com o tamanho do centro hidrofóbico, as ciclodextrinas são denominadas α , β ou γ . As β -ciclodextrinas têm capacidade de acomodar facilmente o colesterol, formando complexos de inclusão (Pitha, 1985; Cross, 1998).

A baixa relação entre o colesterol e os fosfolípidos na membrana plasmática dos espermatozoides dos equídeos parece ser um fator determinante para a maior sensibilidade destas espécies aos processos de criopreservação (Amann e Pickett, 1987). Devido à baixa taxa de fertilidade quando da utilização do sêmen congelado de jumentos (Trimeche et al., 1998; Castejón, 2005; Oliveira, 2005; Rozas, 2005; Vidament et al., 2009), alguns estudos tem sido realizados com a utilização das ciclodextrinas visando melhorar a viabilidade do sêmen criopreservado de jumentos, devido à capacidade destas substâncias de incorporar colesterol na membrana plasmática dos espermatozoides.

Rozas (2005) avaliou o efeito da adição de complexos ciclodextrina-colesterol (CLCs) sobre o resfriamento do sêmen de asininos. Para cada 120×10^6 células

espermáticas foi adicionado 1,5 ou 2 mg de CLCs em diluidor INRA 96, sendo as amostras armazenadas a 15 ou 4°C por 72 horas e avaliadas a cada 24 horas quanto à motilidade espermática e integridade da membrana plasmática. Durante todos os tempos de avaliação, as amostras contendo CLCs apresentaram maior percentual de motilidade total, motilidade progressiva e integridade da membrana plasmática. Quanto ao último parâmetro, observou-se resultados superiores nas amostras armazenadas a 15°C quando comparadas àquelas armazenadas a 4°C. No entanto, apenas o sêmen estocado na temperatura mais baixa e diluído em diluidor contendo CLCs apresentou motilidade total superior a 30% após 72 horas de armazenamento. Ainda, neste mesmo estudo, ao avaliar o uso das CLCs para o congelamento do sêmen de jumentos, nas concentrações de 1,5, 2 e 2,5 mg para cada 120×10^6 espermatozoides, observou-se motilidade total pós descongelamento de 45% para as amostras contendo 2 mg de CLCs para cada 120×10^6 espermatozoides, valor significativamente superior às demais concentrações. Entretanto, as amostras contendo 1,5 e 2,5 mg de CLCs também foram superiores ao grupo controle (amostras sem adição de CLCs). Observou-se, além disso, diferenças quanto à integridade do acrossoma, que apresentou-se superior em todos os tratamentos contendo CLCs. Entretanto, neste experimento, obteve-se apenas uma gestação em 24 ciclos de jumentas inseminadas com sêmen contendo CLCs e diferentes crioprotetores.

Parâmetros seminais similares aos obtidos por Rozas (2005), quando da utilização das CLCs, foi relatado por Álvarez et al. (2006), quando obtiveram melhores resultados de motilidade e de viabilidade espermática pós-descongelamento nas amostras de

sêmen incubadas com CLCs, previamente ao congelamento do sêmen de asininos.

Em um estudo realizado por Jepsen et al. (2010), avaliou-se o efeito de diluidores contendo diferentes concentrações de gema de ovo, associados ou não à presença de β metil-ciclodextrina sobre a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen congelado de asininos. Foram utilizados três diluidores, contendo, dois deles 20% de gema de ovo adicionados ou não de 60mM de β metil-ciclodextrina. Em um terceiro diluidor, utilizou-se 5% de gema de ovo sem a adição de β metil-ciclodextrina. As taxas de concepção foram de 6,25% (1/15) e de 58,3% (14/24) para os diluidores contendo 20% de gema de ovo, na ausência e presença de ciclodextrina, respectivamente. Quando da utilização do terceiro diluidor, contendo 5% de gema de ovo sem ciclodextrina, a fertilidade foi de 46,5% (20/43). Os autores sugeriram que a alta concentração de gema de ovo, devido, provavelmente, ao aumento substancial da quantidade de colesterol, respondeu pela inibição da capacidade fertilizante do sêmen. Por sua vez, a adição da β metil-ciclodextrina, devido à sua capacidade de se ligar ao colesterol, sequestrou quantidade suficiente do mesmo, neutralizando o efeito inibitório causado pelo excesso de gema de ovo, de forma a permitir a recuperação da fertilidade do sêmen a níveis aceitáveis.

2.2.5.1.4. Tampões

A degradação da glicose, pelo metabolismo espermático, tem como produtos finais CO_2 , H_2O e produtos ácidos que alteram o ambiente em que os espermatozoides se encontram (Hammerstedt, 1992). A adição de tampões aos diluidores de sêmen confere capacidade neutralizante ao acúmulo de metabólitos tóxicos aos

espermatozoides, atuando em ampla faixa de pH e temperatura. As principais substâncias utilizadas como tampões em diluidores de sêmen de equinos são o bicarbonato de sódio, o citrato de sódio e HEPES, que atuam em pH ideal de 6,8 a 7,2, 7,0 a 8,0 e 8,0, respectivamente (Aurich, 2011).

Wendt et al. (2002) avaliaram o efeito do pH do diluidor sobre a motilidade do sêmen armazenado a 5°C por 24 horas. Para tal, o sêmen de oito garanhões foi diluído em diluidor à base de leite desnatado – glicose – sacarose com o pH ajustado para 6,4, 6,6, 6,8, 7,0, 7,2, 7,4, 7,6 e 7,8. Neste estudo, não observou-se diferenças entre os tratamentos quanto à motilidade total. Entretanto, a motilidade progressiva se manteve dentro de parâmetros superiores no pH entre 6,4 e 7,4, sendo os melhores resultados associados aos diluidores com pH de 6,6 e 6,8.

O TRIS e o ácido cítrico, também utilizados como tampões, atuam de maneira similar, além de reduzirem os efeitos deletérios da peroxidação lipídica sobre a integridade da membrana plasmática. Outras substâncias como o TES, MES, fosfato de sódio, MOPS e BES, tem sido utilizadas com sucesso nos diluidores de sêmen de mamíferos (Flipse et al., 1954; Salisbury et al., 1978).

Ao adicionarem HEPES e teofilina a um diluidor à base de leite em pó desnatado – glicose, Heiskanen et al. (1987), observaram efeitos benéficos quando do armazenamento do sêmen equino, associado à manutenção do pH durante o período de armazenamento e da presença de efeito estimulatório sobre os espermatozoides. Os autores obtiveram taxas de concepção, ao primeiro ciclo, de 82% para o sêmen diluído em diluidor suplementado com HEPES e teofilina e de 70% para o sêmen diluído em diluidor de leite em

pó desnatado – glicose, ambos armazenados por 24 horas.

Pickett et al. (1974) utilizaram dois diluidores à base de gema de ovo (22,8%), glicose, ácido cítrico, glicerol e 2,4% ou 0,35% de TRIS, sendo os dois diluidores ajustados para uma pressão osmótica de 350 mOsm e pH igual a 7,0. O percentual de espermatozóides móveis sofreu uma redução mais rápida no sêmen diluído em diluidor contendo 0,35% de TRIS. As taxas de concepção por ciclo obtidas foram de 41% e 15%, respectivamente, para o sêmen diluído nos diluidores contendo 2,4 ou 0,35% de TRIS. Apesar de os ingredientes utilizados nos diluidores deste experimento terem sido os mesmos, houve considerável diferença na taxa de eletrólitos para não eletrólitos, o que pode ter exercido um efeito significativo na motilidade (Pickett e Amann, 1987).

2.2.5.1.5. Quelantes

O ácido etileno-diamino-tetracético (EDTA) é um quelante de íons metálicos bivalentes, especialmente de Ca^{+2} . Sua função na preservação das células espermáticas é limitar o movimento desses íons através da membrana plasmática, retardando o início do processo de capacitação e da reação acrossômica (Jonhson et al., 2000). Outra substância que possui função quelante é o ácido cítrico, que além de atuar como tampão e antioxidante, reduzindo a peroxidação lipídica, forma complexos com íons de cálcio, extravasados devido ao aumento da permeabilidade da membrana plasmática (Jones et al., 1979).

2.2.5.1.6. Antioxidantes

Embora sejam importantes em alguns processos fisiológicos das células espermáticas como a capacitação e a reação acrossômica, as espécies reativas

de oxigênio devem ser limitadas ao mínimo necessário para a manutenção da função normal dos espermatozóides. Quando a sua produção pelas mitocôndrias é excessiva, as limitadas defesas antioxidantes endógenas dos espermatozóides são rapidamente exauridas, quando se iniciam os danos oxidativos (Aitken e Fisher, 1994). Altas concentrações de espécies reativas de oxigênio podem ter efeitos deletérios sobre a sobrevivência espermática, promovendo alterações na fluidez e integridade da membrana espermática devido à peroxidação lipídica. Podem, ainda, causar danos ao DNA do núcleo espermático, esgotar os ATPs nas mitocôndrias e, conseqüentemente, reduzir a motilidade, viabilidade e capacidade de fertilização (Cocchia et al., 2011). Os efeitos deletérios das espécies reativas ao oxigênio podem ser prevenidos ou diminuídos através das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase e peroxidases e agentes redutores como a glutathione, ácido ascórbico, taurina e hipotaurina presentes nas células espermáticas ou no plasma seminal.

O ácido cítrico e o TRIS também possuem propriedades antioxidantes e atuam reduzindo a peroxidação dos lipídeos da membrana plasmática e, assim, o seu efeito deletério sobre a integridade da membrana durante o armazenamento (Jones et al., 1979).

Ball et al. (2001) estudaram o efeito de diferentes antioxidantes sobre a motilidade espermática do sêmen equino armazenado a 5°C, ao adicionarem ao diluidor a enzima catalase, antioxidantes lipossolúveis (butilato de hidroxitolueno e vitamina E) e antioxidantes hidrossolúveis (Trolox C – análogo hidrossolúvel da vitamina E, ácido ascórbico – vitamina C e albumina sérica bovina – BSA). Os autores não observaram incremento da motilidade no sêmen armazenado a 5°C,

quando avaliado em diferentes tempos de estocagem, para nenhum dos antioxidantes estudados ou da combinação entre estes. Entretanto, observou-se diferenças de motilidade espermática entre os diferentes ganhões utilizados. Tal diferença pode estar associada à variação da atividade da enzima catalase observada entre diferentes reprodutores.

Em um experimento realizado por Cocchia et al. (2011), estudou-se o efeito da adição da enzima superóxido dismutase (SOD) sobre parâmetros de qualidade seminal de ganhões (motilidade total e progressiva, viabilidade espermática e integridade do acrossoma). Além disto, avaliou-se o seu efeito sobre a fosforilação da proteína quinase regulada por sinais extracelulares (ERK), sendo o sêmen diluído em diluidor de leite desnatado – glicose e resfriado a 5°C. Neste estudo, observou-se que os melhores parâmetros de qualidade seminal estiveram associados às amostras armazenadas em diluidor contendo a enzima SOD, a partir das 24 horas de resfriamento. Após este período, verificou-se uma redução nos parâmetros de qualidade do sêmen nas amostras sem a enzima SOD, associada a um aumento da concentração da proteína pERK1 ativa. Tais observações demonstram um maior índice de fosforilação protéica da ERK durante o armazenamento do sêmen equino a 5°C. A motilidade progressiva dos espermatozoides nas amostras diluídas em diluidor contendo a enzima SOD se manteve acima de 45% até as 72 horas de armazenamento a 5°C.

2.2.5.1.7. Detergentes

O Lauril-sulfato de sódio, denominado orvus es paste (OEP), é um detergente sintético utilizado em diluidores de congelamento (Jonhson et al., 2000). A adição deste surfactante a diluidores

contendo gema de ovo aumenta a motilidade espermática, a integridade acrossômica, a sobrevivência e a fertilidade do sêmen congelado (Bwanga, 1991). Acredita-se que o OEP atue emulsificando e dispersando os lipídeos da gema de ovo, tornando-os mais disponíveis para a membrana plasmática (Pettitt e Buhr, 1998).

Pursel et al. (1978) verificaram que a adição de 1,0 até 1,5% de OEP ao diluidor de congelamento resultou em um aumento da integridade acrossômica pós-descongelamento, embora as concentrações de 0,5 até 1,0% tenham sido mais eficientes no que se refere à manutenção da motilidade. Entretanto, a adição do OEP a diluidores que não continham gema de ovo causou efeitos deletérios aos acrossomas, além de prejudicar a motilidade espermática.

2.2.5.1.8. Antibióticos

O sêmen é uma fonte potencial de contaminação do sistema genital feminino. Dentre as bactérias mais comumente isoladas do sêmen de equinos estão: *Escherichia coli*, *Streptococcus spp.* beta-hemolítico, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa* (Merkt et al., 1975). Os antibióticos mais utilizados na diluição do sêmen são o sulfato de amicacina, sulfato de gentamicina, sulfato de estroptomicina, penicilina sódica ou potássica, ticarcilina dissódica e sulfato de polimixina B (Burns et al., 1975; Bowen et al. 1982).

Há que se salientar, no entanto, que apesar de sua extrema importância, a adição de antibióticos ao diluidor pode ser prejudicial à motilidade espermática, principalmente quando o sêmen é armazenado e/ou refrigerado, em virtude da exposição prolongada ao antibiótico. A estreptomicina, rotineiramente utilizada em diluidores de sêmen bovino, é prejudicial à

motilidade dos espermatozoides do garanhão, principalmente à temperatura de 38°C (Pickett e Amann, 1987).

O efeito da adição de antibióticos à motilidade espermática foi avaliado por Jasko et al. (1993), ao adicionarem, ao diluidor, 1000 ou 2000 UI/mL de sulfato de amicacina, ticarcilina dissódica, sulfato de gentamicina e sulfato de polimixina B. Neste experimento, utilizou-se o sêmen de oito garanhões diluído em diluidor de leite em pó desnatado – glicose, incubado por uma hora a 23°C e resfriado a 5°C por 48 horas. Após o período de incubação, observou-se redução imediata da motilidade progressiva nas amostras contendo gentamicina. Após um período de 24 horas, as amostras contendo ambas as concentrações de polimixina B e aquelas diluídas na presença de 2000 UI/mL de sulfato de gentamicina apresentaram redução das motilidades total e progressiva. O mesmo foi observado às 48 horas de resfriamento, quando as amostras diluídas em diluidor contendo sulfato de amicacina também apresentaram uma redução da motilidade total. Desta maneira, dos quatro antibióticos utilizados, apenas um não exerceu efeito deletério sobre a motilidade espermática, a ticarcilina dissódica, que não diferiu, entretanto, das amostras resfriadas sem a adição de antibiótico.

Vieira et al. (2002) compararam a eficiência do sêmen diluído em diluidor à base de leite em pó desnatado sem adição de antibióticos (LD) ou acrescido de 50 UI/mL de penicilina e 50 µg/mL de sulfato de gentamicina (LDGP) ou 1000 µg/mL de sulfato de amicacina e 1000 UI/mL de penicilina (LDAP) quanto à manutenção da motilidade e integridade da membrana plasmática durante 72 horas de armazenamento a 4°C. Avaliou-se, também, a fertilidade de éguas

inseminadas dentro de uma hora da coleta do sêmen. Os autores observaram maior motilidade e integridade da membrana plasmática nas amostras diluídas em LD e LDGP após as 24 horas de armazenamento, sem que houvesse diferenças entre os dois tratamentos. Quanto às taxas de gestação, avaliadas aos 14 dias, estas foram de 60, 72 e 74% para os tratamentos envolvendo a diluição do sêmen em LD, LDGP e LDAP, respectivamente, e não diferiram ($p>0,05$) entre si.

2.2.5.2. Controle do pH e da pressão osmótica do diluidor

O controle do pH do diluidor é de grande importância para a manutenção da viabilidade das células espermáticas, devendo ser similar àquele encontrado no plasma seminal, entre 6,9 e 7,8 (Burns et al., 1975; Pickett et al., 1976). A maior parte dos diluidores à base de leite possui o pH entre 6,5 e 7,0 (Pickett e Amann, 1987); entretanto, alguns antibióticos como a gentamicina tendem a reduzir o pH do diluidor (Jasko et al., 1993). O pH pode sofrer alterações, ainda, durante o armazenamento devido à degradação da glicose pelo metabolismo espermático, tendo como produtos finais o CO₂, H₂O e produtos ácidos (Hammerstedt, 1992). Visando controlar e manter o pH do diluidor, substâncias tampões como o bicarbonato de sódio, citrato de sódio, HEPES, TRIS e ácido cítrico podem ser adicionadas ao meio (Salisbury et al., 1978; Aurich, 2011). No entanto, variações de pH entre 6,4 e 7,4 não parecem afetar a motilidade progressiva do sêmen equino diluído em diluidor à base de leite desnatado e armazenado a 5°C por 24 horas (Wendt et al., 2002).

A osmolaridade do plasma seminal de garanhões é de 300 a 310 mOsm (Pickett et al., 1976; Katila, 1997), embora a pressão osmótica da maioria

dos diluidores varie de 250 a 400 mOsm (Katila, 1997). Entretanto, uma pressão osmótica de 350 mOsm parece ser a mais adequada para o armazenamento do sêmen equino em diluidor à base de leite desnatado a 5°C (Varner, 1991). O controle da pressão osmótica do diluidor é importante, principalmente, para prevenir o movimento de água através da membrana plasmática do espermatozoide. O influxo de água para a célula espermática, causado pela diluição do sêmen em meio hiposmótico, pode levar à ruptura da membrana plasmática. Já o efluxo de água para o meio extracelular pode resultar em hipertonicidade do citoplasma e morte da célula espermática (Cueva et al., 1997). A pressão osmótica pode ser afetada, também, pela utilização de lubrificantes solúveis em água na vagina artificial durante a coleta do sêmen, sendo que a adição de 10% de lubrificante aumentou a osmolaridade do sêmen de garanhões de 309 para 435 mOsm, respondendo pela redução em mais de 48% das motilidades total e progressiva em 120 minutos (Duoos et al., 2002).

2.2.5.3. Tipos de diluidores utilizados para o resfriamento do sêmen de jumentos

Para o resfriamento do sêmen de jumentos, tem sido utilizados diluidores à base de leite (Boeta e Quintero, 2000; Rozas, 2005; Rossi, 2008; Vidament et al., 2009; Carvalho, 2011), à base de gema de ovo (Ferreira, 1993; Rossi, 2008; Carvalho, 2011), ou ainda, aqueles envolvendo uma associação de leite e gema de ovo (Vidament et al., 2009).

A taxa de concepção de éguas inseminadas é bastante variada na literatura. Assim, Ferreira (1993) ao utilizar um diluidor de lactose – gema de ovo obteve taxas de concepção de 80,0 e 75,9% para o sêmen armazenado por 24 ou 48 horas, respectivamente. Taxas de concepção de 76,5 e 54,5% foram relatadas por Boeta e Quintero (2000), ao utilizarem diluidores à base de leite UHT ou leite em pó desnatado – glicose. Já Vidament et al. (2009), utilizando também um diluidor à base de leite UHT, obtiveram uma taxa de concepção de 45%. Entretanto, comparações entre diluidores à base de leite ou de gema de ovo, para o resfriamento do sêmen de asininos, foram realizadas, apenas, por Rossi (2008) e Carvalho (2011). No primeiro trabalho, a autora não observou diferenças quanto às taxas de concepção de éguas inseminadas com sêmen diluído em diluidor de leite em pó desnatado – glicose ou glicina – gema de ovo, que foram de 52,69% e 47,06%, respectivamente. Já Carvalho (2011), ao realizar a coleta fracionada do sêmen, utilizou apenas a fração rica em espermatozoides para o resfriamento, quando obteve uma taxa de concepção melhor no sêmen diluído com o diluidor de leite em pó desnatado – glicose (56,52%), quando comparado ao diluidor lactose - gema de ovo (4,76%). Estes dois trabalhos relataram a utilização de diluidores contendo 20% de gema de ovo, porém com taxas de concepção bastante diferentes. Parece que a baixa taxa de concepção observada por Carvalho (2011), pode estar relacionada a uma associação entre a alta concentração de gema de ovo e a retirada do plasma seminal, através da coleta fracionada do sêmen.

Tabela 2.2: Fertilidade de éguas e/ou jumentas inseminadas com sêmen asinino fresco, diluído, resfriado ou congelado.

Autor	Armazenamento do sêmen	Diluidor	Dose inseminante	Espécie das fêmeas	Taxa de concepção
Krause e Grove (1967)	Congelado	Gema de ovo + glicose, rafinose ou lactose + glicerol	100 palhetas	Éguas	50% (1/2)
Vieira et al. (1985)	Congelado	Lactose + gema de ovo + EDTA (Martin et al., 1979)	300 a 400 x 10 ⁶	Éguas	66,7% (6/9)
Arruda et al. (1986)	Congelado	Lactose + gema de ovo + EDTA (Martin et al., 1979)	—	Éguas	44% (7/16)
Palhares et al. (1986)	Fresco diluído	Lactose - gema de ovo	2152 x 10 ⁶	Jumentas	57 % (8/14 ao primeiro ciclo)
Silva (1988)	Fresco diluído	Lactose – gema de ovo	200 x 10 ⁶	Éguas	68,3 a 92,1% (em três estações reprodutivas)
Ferreira (1993)	Fresco diluído	Lactose – gema de ovo	250 x 10 ⁶	Éguas	82,7% (23/29)
	Resfriado (5°C/24 horas)				80% (24/30)
	Resfriado (5°C/48 horas)				75,9% (22/29)
Leite (1994)	Fresco diluído	Leite em pó desnatado – glicose	50 x 10 ⁶	Éguas	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)
Trimeche et al. (1998)	Congelado	T2 – 94 (Glutamina + gema de ovo de codorna + glicerol)	600 x 10 ⁶	Jumentas	62% (8/13)
Papa et al. (1999)	Congelado	M9H (Lactose, gema de ovo, EDTA + leite em pó desnatado, glicose + meio de cultura BME)	800 x 10 ⁶	Éguas	66% (2/3)
Boeta Quintero (2000)	Resfriado (5°C/até 48 horas)	Leite UHT	400 x 10 ⁶	Éguas	76,5% (13/17 ao primeiro ciclo)
		Leite em pó desnatado – glicose			54,5% (6/11 ao primeiro ciclo)
Rozas (2005)	Resfriado (15°C)	Leite UHT	1 x 10 ⁹	Jumentas	21% (6/28) – Sêmen centrifugado
Rozas (2005)	Resfriado	Leite UHT	1 x 10 ⁹		27% (23/85) – Sêmen total
		INRA 96			47,36% (18/38)
		Glicose – EDTA + 2,5% Dimetilformamida			0% (0/8)
	Congelado	Glicose – EDTA + 2,5% Glicerol + CLC (complexo ciclodextrina-colesterol)	500 x 10 ⁶	Jumentas	0% (0/7)
		Glicose – EDTA + 2,5% Dimetilformamida + CLC			11% (1/9)

Castejón (2005)	Congelado	Lactose – gema – EDTA + 2,5% Glicerol	500 x 10 ⁶	Jumentas	0% (0/9) – Rediluição após descongelamento 11,11 (1/9) – Retirada do glicerol após descongelamento
Jepsen (2007)	Congelado	Merck II + 20% gema de ovo + 4% glicerol ou 2% etilenoglicol	300 x 10 ⁶	Éguas	6,25% (1/15)
		EZ Mixin OF + 5% gema de ovo + 2% etilenoglicol			46,5% (20/43)
		EZ Mixin OF + 20% gema de ovo + 2% etilenoglicol + 60 mM β-ciclodextrina			58,3% (14/24)
Rossi (2008)	Fresco Diluído	Leite em pó desnatado – glicose	400 x 10 ⁶	Éguas	63,64% (21/33)
		Glicina – 20% gema de ovo			54,55% (24/44)
	Resfriado (5°C/até 12 horas)	Leite em pó desnatado – glicose			52,69% (49/93)
		Glicina – 20% gema de ovo			47,06% (48/102)
Canisso (2008)	Congelado	Lactose – gema + glicerol	300 x 10 ⁶	Éguas	50% (15/30)
		Lactose – gema – EDTA			53,33% (16/30)
Vidament et al. (2009)	Resfriado (4°C/até 8 horas)	Leite UHT	200 x 10 ⁶	Jumentas	45% (9/20)
				Éguas	45% (33/73)
	Congelado	INRA 82 + 2% gema de ovo + 2,2% glicerol	800 x 10 ⁶	Jumentas	11% (4/38)
				Éguas	36% (18/50)
	Fresco diluído	Leite UHT			86% (6/7)
		Leite UHT			78% (7/9)
	Resfriado (4°C uso imediato)	INRA 82 + 2% gema de ovo	400 x 10 ⁶	Jumentas	63% (5/8)
		INRA 82 + 2% gema de ovo + 2,2% glicerol			0% (0/8)
	Resfriado (4°C/1 hora)	INRA 82 + 2% gema de ovo			64% (7/11)
		INRA 82 + 2% gema de ovo + 1,9% glicerol			8% (1/12)
		INRA 82 + 2% gema de ovo + 2% dimetilformamida			67% (8/12)
Vidament et al. (2009)	Resfriado (4°C/1 hora)	INRA 82 + 2% gema de ovo + 1,3% etilenoglicol	400 x 10 ⁶	Jumentas	45% (5/11)
	Congelado	INRA 82 + 2% gema de ovo + 2,2% glicerol (rediluído em leite desnatado após o descongelamento)			0% (0/15)
		INRA 82 + 2% gema de ovo + 2,2% glicerol			0% (0/8)

		INRA 82 + 2% gema de ovo + 2,2% glicerol (centrifugado e ressuscitado após o descongelamento)			13% (1/8)
		INRA 82 + 2% gema de ovo + 2,1% glicerol			0% (0/6)
		INRA 82 + 2% gema de ovo + 2,2% dimetilformamida			11% (3/28)
Diaz et al. (2009)	Fresco diluído	ODT 3-4-2 (glicose + lactose + leite em pó desnatado)	250 x 10 ⁶	Éguas	53,8% (14/26)
Carvalho (2011)	Coleta dos três primeiros jatos, resfriado (5°C/ até 24 horas)	Leite em pó desnatado – glicose	400x 10 ⁶	Éguas	56,52% (13/23)
		Lactose – 20% gema de ovo			4,76% (1/21)
		Leite em pó desnatado – glicose	400x 10 ⁶		41,46% (17/41)
			800x 10 ⁶		47,37% (18/38)
Rota et al. (2012)	Congelado	INRA96 + 2% gema de ovo + glicerol (rediluição em plasma seminal após descongelamento)	500x10 ⁶	Jumentas	61,54% (8/13)
		INRA96 + 2% gema de ovo + glicerol (rediluição em INRA96 após descongelamento)			23,08% (3/13)
		INRA96 + 2% gema de ovo + etilenoglicol (rediluição em INRA96 após descongelamento)			25% (2/8)
		INRA96 + 2% gema de ovo + glicerol			20% (1/5)

A associação de duas macromoléculas, leite e gema de ovo, no mesmo diluidor, para o resfriamento do sêmen de asininos, foi relatada por Vidament et al. (2009) e Rota et al. (2012). Estes autores, adicionaram 2% de gema de ovo aos diluidores comerciais INRA82 (Vidament et al., 2009) ou INRA96 (Rota et al., 2012), visando à inseminação de jumentas. No entanto, não há relatos na literatura quanto à associação destas duas macromoléculas em diluidores de resfriamento de sêmen de asininos visando à inseminação de éguas para a produção de muare.

Os resultados de fertilidade de éguas e/ou jumentas inseminadas com sêmen asinino fresco, resfriado ou congelado,

obtidos por pesquisadores de todo o mundo, estão apresentados na Tabela 2.2.

2.2.6. Influência do volume, da concentração espermática e do número de espermatozoides por dose inseminante sobre a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen resfriado de asininos

Uma alta quantidade de plasma seminal pode ser prejudicial à motilidade espermática durante longo período de resfriamento (Pruitt et al., 1993). Assim, o plasma seminal deve ser mantido em concentrações de 5 a 20%; portanto, ao calcular-se a taxa de diluição ideal, a proporção entre plasma seminal e

diluidor deve ser levada em consideração. No entanto, se a concentração espermática do ejaculado for baixa, nem sempre é possível realizar uma diluição adequada do sêmen para que a concentração de plasma seminal seja inferior a 20%. Se tal diluição fosse realizada, resultaria em volume excessivo e baixa concentração espermática na dose inseminante (Katila, 1997).

Dentro deste contexto, Jasko et al. (1992) compararam a taxa de recuperação de embriões de éguas inseminadas com sêmen equino com doses contendo 250 milhões de espermatozoides diluídos em um volume de 10 ou 50 mL. Sendo assim, a dose inseminante de menor volume tinha uma concentração de 25×10^6 espermatozoides por mL e a dose de 50 mL uma concentração de apenas 5×10^6 . Neste experimento, os autores recuperaram menor número de embriões das éguas inseminadas com as amostras mais diluídas (50 mL) em relação às inseminadas com doses de 10 mL, quando obteve-se taxas de recuperação de embriões de 35,3 e 70%, respectivamente. Neste mesmo estudo, ao compararem doses inseminantes de 50 ou 10 mL, contendo a mesma concentração espermática (25×10^6 espermatozoides/mL), não observou-se diferenças quanto às taxas de recuperação embrionária, que foram de 78,9 e 80%, respectivamente.

Em um estudo envolvendo 561 éguas, Newcombe et al. (2005) não observaram diferenças entre as taxas de concepção de éguas inseminadas com sêmen resfriado de um único garanhão quanto ao número de espermatozoides por dose inseminante, que variou de 450 a 2000×10^6 espermatozoides. Quanto ao volume da dose inseminante, houve uma variação de 10 a 40 mL. Por sua vez, quanto à concentração espermática, utilizou-se de 30 – 39 até 80 – 89

milhões de células espermáticas/mL de sêmen diluído.

Ao trabalhar com sêmen fresco diluído de asininos, Leite (1994) obteve taxas de concepção inferiores para as éguas inseminadas com doses contendo 50 e 100 milhões de espermatozoides/dose quando comparadas àquelas inseminadas com doses contendo 200 milhões de células ou mais. As taxas de concepção/ciclo foram de 3,44% (1/29), 20,68% (6/29), 53,12% (17/32), 70% (21/30) e 67,64% (23/34), respectivamente, para os tratamentos contendo 50, 100, 200, 400 ou 600 milhões de espermatozoides com motilidade progressiva por dose inseminante. Assim, observou-se influência do número de espermatozoides por dose inseminante sobre a taxa de concepção de éguas até atingir-se 200×10^6 espermatozoides móveis por dose inseminante, a partir da qual a fertilidade das éguas não diferiu.

Da mesma maneira, Carvalho (2011) não observou diferenças entre as taxas de concepção por ciclo de éguas inseminadas com sêmen asinino resfriado, utilizando-se doses contendo 400 ou 800 milhões de espermatozoides, que foram de 41,46% (17/41) e 47,37% (18/38), respectivamente.

Boeta e Quintero (2000) obtiveram taxas de concepção de 54,5% (6/11) e 76,5% (13/17) quando da inseminação de éguas com sêmen asinino diluído em dois diluidores à base de leite e resfriado em doses inseminantes de 10 mL, contendo 400×10^6 espermatozoides móveis. Também Rossi (2008), utilizando sêmen resfriado de jumentos contendo 400×10^6 espermatozoides, porém em 20 mL, para inseminação de éguas, obteve taxas de concepção de 47,06% (48/102) e 52,69% (49/93), utilizando diluidores à

base de gema de ovo ou leite, respectivamente.

Doses inseminantes contendo entre 200 e 400 milhões de células espermáticas com motilidade progressiva parecem ser capazes de manter boas taxas de concepção quando da utilização do sêmen asinino resfriado. Neste sentido, Ferreira (1993) obteve taxas de concepção de 82,7% (23/29), 80% (24/30) e 75,9% (22/29) ao inseminar éguas com sêmen asinino fresco diluído, resfriado a 5°C por 24 ou por 48 horas, respectivamente, com doses inseminantes contendo 250×10^6 espermatozoides móveis.

2.2.7. Tipo de envasamento do sêmen de asininos resfriado

O tipo de envasamento do sêmen resfriado exerce influência sobre a sobrevivência espermática devido à presença ou ausência de oxigênio durante o período de armazenamento (Katila, 1997). Assim, ao estudarem a atividade metabólica dos espermatozoides de equinos e asininos, Mann et al. (1963) relataram que ambos são ineficientes quanto ao metabolismo anaeróbico; entretanto, são bastante eficientes em condições de aerobiose, principalmente quando da adição de substratos. No entanto, a taxa de metabolismo aeróbico é ainda maior na espécie asinina do que nos equinos. Tal condição foi demonstrada através da diluição da fração rica em espermatozoides em diluidor à base de gema de ovo, antes de um resfriamento a 5°C. As amostras de sêmen dos jumentos mantiveram motilidade de 80, 80, 75 e 60% quando decorridos 2, 4, 6 e 8 dias de armazenamento, respectivamente, enquanto a motilidade dos espermatozoides equinos foi de 60, 55, 25 e 18% para os mesmos dias descritos anteriormente para os jumentos. O declínio da taxa de

respiração foi equivalente ao observado quanto à motilidade.

Em um experimento conduzido por Batellier et al. (1998), comparou-se a eficiência de dois tratamentos para o resfriamento do sêmen de equinos. O primeiro tratamento envolveu a diluição do sêmen em diluidor INRA 82 ou leite em pó desnatado – glicose com um pré resfriamento a 4°C, em condições de anaerobiose. Em um segundo tratamento, diluiu-se o sêmen em diluidor INRA 96 (diluidor à base leite contendo fosfocaseinato), antes de um resfriamento a 15°C em condições aeróbicas. As doses foram envasadas em seringas de 20 mL contendo apenas 10 mL de sêmen para o primeiro tratamento ou 10 mL de sêmen e 10 mL de ar para o segundo, sendo todas as doses armazenadas em posição horizontal. As taxas de concepção obtidas neste experimento foram de 57% para o sêmen armazenado em condições aeróbicas, que apresentou-se superior aos 40% obtidos quando da inseminação de éguas com sêmen armazenado a 4°C, sob condições de anaerobiose.

O armazenamento do sêmen a temperaturas mais altas (15°C), geralmente requer que o mesmo seja mantido em condições aeróbicas. Por outro lado, sua manutenção a 5°C deve ser associada à anaerobiose, em virtude da redução da atividade metabólica. No entanto, quando o diluidor EquiPro, com composição similar à do INRA 96 (Aurich et al., 2007), foi utilizado para o armazenamento do sêmen equino a 5 ou 15°C, sob condições aeróbicas ou anaeróbicas, Price et al. (2008) observaram uma tendência de melhor conservação da qualidade seminal nas amostras armazenadas a 5°C, independentemente da exposição ao oxigênio.

Visando avaliar o efeito da aeração sobre a qualidade do sêmen de equinos, Heiskanen et al. (1987), submeteram o sêmen de garanhões diluído em diluidor de leite em pó desnatado-glicose a três diferentes atmosferas. Quando as amostras foram incubadas por 24 horas a 25 - 27°C em atmosferas de ar ou a uma composição de 95%O₂+5%CO₂, observou-se maior sobrevivência espermática quando da utilização do segundo tratamento. Ao submeter o sêmen ao resfriamento, de acordo com a metodologia proposta por Douglas-Hamilton et al. (1984), os autores observaram superioridade das amostras armazenadas em sacos plásticos na ausência de ar, quando comparado ao sêmen estocado em atmosfera de 95%O₂+5%CO₂, sendo as amostras armazenadas em sacos plásticos fechados com ar.

Apesar de não haver relatos envolvendo o armazenamento do sêmen sob diferentes condições para a espécie asinina, Rossi (2008) e Carvalho (2011), obtiveram taxas de concepção aceitáveis quando do envase do sêmen de jumentos em tubos de vidro de 22 mL e posterior resfriamento a 5°C, sendo os tubos completamente preenchidos e mantidos na posição vertical, minimizando o contato das células espermáticas com o ar.

2.2.8. Curva de resfriamento do sêmen de equídeos

A taxa de resfriamento e a temperatura final de armazenamento do sêmen são considerados os principais fatores responsáveis pelos danos às células espermáticas submetidas ao resfriamento (Varner et al., 1988). Desta forma, as taxas de resfriamento lentas tem sido associadas à maior longevidade e melhor motilidade espermática nos equinos (Douglas-Hamilton et al., 1984; Province et al., 1985).

Segundo Kayser et al. (1992), os espermatozoides equinos podem ser rapidamente resfriados, a uma taxa de -0,7°C/minuto, de 37 a 20°C, sendo que a partir desta temperatura até 5°C deve ser utilizada uma taxa lenta, entre -0,05° e -0,1°C/minuto, visando reduzir os efeitos prejudiciais causados pelo choque pelo frio nesta faixa de temperatura. Taxas de resfriamento superiores a -0,3°C/minuto entre 20 e 8°C foram responsáveis por danos irreversíveis aos espermatozoides, caracterizados por padrão anormal de movimentação, queda da motilidade e danos à membrana plasmática (Moran et al., 1992).

Douglas-Hamilton et al. (1984) observaram que a utilização de taxas de resfriamento superiores a -1°C/minuto, para o sêmen de equinos, resultou em danos na motilidade e integridade estrutural dos espermatozoides, demonstrados pela queda da motilidade, aumento dos defeitos morfológicos e do percentual de células espermáticas coradas pela eosina-nigrosina. Tais condições não foram observadas quando da utilização de taxas de resfriamento inferiores a -0,33°C/minuto.

Em estudo conduzido por Ferreira (1993) utilizou-se taxas de resfriamento de -0,6, -0,3 e -0,2°C/minuto para o sêmen de jumentos diluído em diluidor de leite em pó desnatado – glicose ou em diluidor à base de lactose – gema de ovo. O autor observou que as diferentes taxas de resfriamento não influenciaram a longevidade espermática para o sêmen diluído em diluidor de leite em pó desnatado – glicose. Entretanto, quando o sêmen foi diluído em diluidor à base de lactose – gema de ovo, a taxa de resfriamento mais rápida, de -0,6°C/minuto, foi superior quanto à manutenção da longevidade espermática.

Ao trabalhar com sêmen de asininos, Santos (1994) avaliou o efeito de três taxas de resfriamento (-0,3; -0,6 e -1,0°C/minuto), obtidas com a utilização de geladeira doméstica ou com um aparelho computadorizado utilizado para o congelamento de embriões, sobre a motilidade total, motilidade progressiva e vigor espermático do sêmen diluído em diluidor de leite em pó desnatado – glicose. Neste estudo, observou-se melhor manutenção dos parâmetros avaliados, a partir das 48 horas de armazenamento, quando utilizou-se as taxas de resfriamento mais rápidas (-0,6 e -1,0°C/minuto), diferentemente do que tem sido descrito para o resfriamento do sêmen de equinos.

2.2.9. Temperatura final de armazenamento do sêmen de asininos

Nos equinos, uma temperatura de aproximadamente 5°C tem sido relatada como ideal para a manutenção da motilidade e fertilidade do sêmen. O armazenamento do sêmen a 5°C é benéfico à conservação dos espermatozoides devido à redução do crescimento bacteriano e, principalmente, do metabolismo espermático (Katila, 1997; Aurich, 2008). Quando associada à restrição da oxigenação, favorecendo o metabolismo anaeróbico, há redução da formação de espécies reativas de oxigênio e, consequentemente, dos danos causados à membrana plasmática dos espermatozoides (Davies-Morel, 1999).

O sêmen somente deve ser estocado em temperatura ambiente se sua utilização ocorrer até 12 horas após a sua coleta e processamento (Varner et al., 1988; Love et al., 2002). O armazenamento do sêmen em temperaturas mais altas (15°C), geralmente requer que o mesmo seja mantido em condições aeróbicas, enquanto sua manutenção a 5°C deve ser associada à anaerobiose, devido à

redução da atividade metabólica (Aurich, 2008). Além disto, quando do armazenamento do sêmen a 15°C, sob condições aeróbicas, o crescimento bacteriano não é suficientemente reduzido (Price et al., 2008).

Três diferentes temperaturas de armazenamento do sêmen de jumentos da raça Zamorano – Leonés foram avaliadas em estudo conduzido por Serres et al. (2002), tendo como pontos finais a avaliação da manutenção da motilidade total, motilidade progressiva e da integridade da membrana plasmática. Estes autores não observaram diferença entre a motilidade das amostras diluídas em diluidor INRA 82 e armazenadas a 4 ou 15°C. Entretanto, estas apresentaram motilidade superior às amostras diluídas em diluidor INRA 82 e estocadas a 20°C. O sêmen armazenado a 15°C foi superior, ainda, quanto à integridade da membrana plasmática em relação ao armazenamento a 4 ou 20°C.

Da mesma maneira, Batellier et al. (1997) obtiveram maior taxa de concepção quando da inseminação de éguas com sêmen de garanhões armazenado a 15°C, em relação ao sêmen estocado a 4°C. Segundo os autores, como o “choque pelo frio” pode ocorrer na faixa de 10°C, o armazenamento a 15°C pode prevenir danos à membrana plasmática dos espermatozoides e ser, assim, utilizado para reprodutores com células mais sensíveis às mudanças de temperatura.

Em estudo conduzido por Cottorello et al. (2002), três diluidores, sendo um à base de leite em pó desnatado – glicose e outros dois à base de 3 ou 10% de gema de ovo, foram utilizados para o resfriamento do sêmen de asininos a 0, 5 ou 10°C, quando avaliou-se a motilidade total, motilidade progressiva e vigor durante seis dias de armazenamento. Independentemente da

temperatura final de armazenamento, os diluidores à base de gema de ovo foram superiores quanto à manutenção dos parâmetros avaliados e mantiveram motilidade superior a 30% até o terceiro dia de armazenamento. Observou-se, ainda, redução da atividade espermática nos diluidores contendo gema de ovo na temperatura de 10°C às 48 e 72 horas de armazenamento, em relação às demais temperaturas. O diluidor contendo 10% de gema de ovo foi superior aos demais à temperatura de 0°C, embora não tenham sido observadas diferenças entre esta temperatura e a de 5°C para este diluidor. Por outro lado, para o diluidor contendo 3% de gema de ovo houve uma tendência de superioridade quando as células espermáticas foram mantidas a 5°C, em relação à manutenção à temperatura final de armazenamento de 0°C. No entanto, diferença significativa somente foi observada às 96 horas de estocagem.

No que se refere às inseminações utilizando o sêmen resfriado de asininos, a maioria dos estudos realizados envolveu uma temperatura final de armazenamento de 4-5°C, resultando em fertilidade aceitável (Ferreira, 1993; Boeta e Quintero, 2000; Rossi, 2008; Vidament et al., 2009; Carvalho, 2011). O único trabalho envolvendo o armazenamento do sêmen asinino a 15°C foi conduzido por Rozas (2005), porém para a inseminação de jumentas. Não há, no entanto, relatos na literatura comparando o efeito do armazenamento do sêmen asinino em diferentes temperaturas finais tendo como ponto final a avaliação da fertilidade de éguas ou jumentas inseminadas.

2.2.10. Período de estocagem do sêmen de asininos

A fertilidade do sêmen dos equinos, geralmente, é mantida por 24 a 48 horas, havendo, após este período, uma

redução significativa das taxas de concepção (Jasko et al., 1992). Apesar de haver grande variação individual, o sêmen da maioria dos garanhões não mantém boa fertilidade por períodos maiores que 48 horas de armazenamento (Aurich, 2008). Entretanto, o intervalo de tempo no qual o sêmen pode ser armazenado *in vitro* e ainda manter sua fertilidade é influenciado pelo diluidor, pela temperatura de armazenamento e pela variabilidade individual (Pickett et al. 1987).

Além dos danos causados à membrana plasmática durante o processo de resfriamento e armazenamento do sêmen, pode ocorrer, ainda, fragmentação do DNA dos espermatozoides, contribuindo para a redução da fertilidade. Fragmentação significativa do DNA é encontrada, geralmente, após um período de 48 horas de estocagem; no entanto, apesar de nem sempre ser perceptível antes disto, a fragmentação pode se tornar aparente após incubação subsequente do sêmen a 37°C (Linfor e Meyers, 2002; Love et al., 2002).

Dentro deste contexto, Mann et al. (1963) compararam a longevidade espermática de asininos e equinos. Para tal, diluíram a fração rica em espermatozoides dos ejaculados de dois garanhões e dois jumentos em diluidor à base de gema de ovo, resfriado a uma taxa de -0,5°C/minuto até 5°C e mantidos nesta temperatura por oito dias. Neste estudo, observou-se maior longevidade espermática para a espécie asinina, que apresentou valores de motilidade de 80, 80, 75 e 60%, respectivamente, após 2, 4, 6 e 8 dias de armazenamento, enquanto, para os mesmos dias de estocagem as amostras de sêmen equino apresentaram percentual de motilidade de 60, 55, 25 e 18%.

Ao comparar a fertilidade do sêmen asinino fresco diluído em diluidor à base de gema de ovo à do sêmen diluído e resfriado a 5°C por 24 ou 48 horas, Ferreira (1993) obteve taxas de concepção de 82,7, 80 e 75,9%, respectivamente, não havendo diferenças entre os tratamentos. Os resultados obtidos *in vivo*, no entanto, não refletiram aqueles observados *in vitro*, quando a motilidade do sêmen apresentou melhores resultados às 24 horas de armazenamento (63,33%) do que às 48 horas (55,68%).

Boeta e Quintero (2000) obtiveram taxas de concepção, ao primeiro ciclo, de 76,5 e 54,5% para éguas inseminadas com sêmen asinino diluído em diluidor à base de leite UHT ou leite em pó desnatado – glicose, respectivamente, e resfriado a 4°C por até 48 horas.

Em equinos, Batellier et al. (1998) compararam a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen fresco diluído no diluidor INRA 96 à fertilidade do sêmen após 72 horas de armazenamento a 15°C, e obtiveram taxas de concepção por ciclo de 68 e 48%, respectivamente, para o sêmen fresco ou resfriado. O resultado obtido com o sêmen armazenado por 72 horas diferiu daquele obtido com o sêmen fresco diluído. Entretanto, encontra-se dentro de parâmetros aceitáveis para a inseminação de éguas utilizando o sêmen resfriado de equinos.

2.2.11. Tipo de contêiner utilizado para o armazenamento do sêmen de equídeos

O resfriamento do sêmen de equinos pode ser realizado através de dois métodos: ativo, constituído por taxas de resfriamento fixas entre determinadas temperaturas e passivo, obtido através da utilização de contêiners, que permitem que o sêmen seja resfriado durante o transporte e possuem baixos

custos, quando comparados aos métodos ativos. No entanto, as taxas de resfriamento proporcionadas pelos contêiners podem ser variáveis devido a flutuações da temperatura ambiente (Jasko et al., 1992). Dentre os contêiners utilizados para o resfriamento e transporte do sêmen de equinos destacam-se o Equitainer (Douglas-Hamilton et al., 1984), Celle e Sarsted (Hueck, 1990), Celle modificado (Valle, 1997) e o contêiner desenvolvido por Palhares (1997).

O contêiner Equitainer, desenvolvido por Douglas-Hamilton et al. (1984), é amplamente utilizado em todo o mundo para o transporte do sêmen equino. Este contêiner proporciona uma taxa de resfriamento controlada inicial de -0,3°C/minuto, considerada ideal para o resfriamento do sêmen de garanhões, atingindo temperatura final entre 4 e 6°C, dez horas após o seu fechamento. Os autores avaliaram a motilidade do sêmen de equinos armazenado no Equitainer e relataram valores médios de 76% entre 10 e 13 horas de armazenamento, 64% entre 14 e 24 horas e 59% entre 24 e 36 horas. Quanto à fertilidade do sêmen armazenado neste contêiner, neste mesmo estudo, foram obtidas taxas de concepção de 90% para o sêmen armazenado entre 6 e 12 horas, 93% para o sêmen armazenado entre 12 e 24 horas, sendo que a taxa de concepção, ao final de três ciclos, com a utilização de sêmen armazenado por até 24 horas foi de 91%.

O Equitainer tem como desvantagem o alto custo, além de gerar gastos adicionais aos proprietários de éguas a serem inseminadas em virtude de poder ser reutilizado por várias vezes e, assim, precisa ser devolvido à central onde se encontra o garanhão. Visando reduzir os custos de envio do sêmen, contêiners descartáveis e mais baratos foram desenvolvidos, como o ExpectFoal e o

Equine Express, originalmente desenvolvido na Suécia e denominado Salsbro Box, destinado ao transporte de sêmen humano (Katila et al., 1997).

Katila et al. (1997) avaliaram a eficiência de três contêiners comerciais, o Equitainer, o ExpectFoal e o Equine Express no que se refere à manutenção da qualidade do sêmen de garanhões durante o resfriamento. O sêmen de três garanhões foi diluído em diluidor de leite em pó desnatado – glicose e armazenado em cada um dos contêiners. O Equitainer manteve uma temperatura inferior a 10°C pelo maior período de tempo, durante 53 horas, enquanto o Equine Express manteve as amostras em temperatura inferior a 10°C por 33,5 horas e o ExpectFoal por 27,5 horas. Apesar da superioridade do Equitainer quanto à manutenção da temperatura, os valores médios de motilidade após 24 horas de armazenamento não diferiram entre os três contêiners.

Em 1997, Palhares propôs a utilização de um contêiner composto de um orifício central, de maior diâmetro, onde é inserido o bloco refrigerador, que comunica-se, através de 14 orifícios pequenos, com os seis orifícios laterais de menor diâmetro onde são inseridos os tubos de vidro que contêm as doses inseminantes. Este contêiner proporcionou taxas de resfriamento de -0,48°C/minuto entre 37 e 18°C, de -0,07°C/minuto entre 18 e 8°C e de -0,01°C/minuto entre 8 e 5,6°C, quando a temperatura se manteve estável por 24 horas. A fertilidade obtida neste trabalho, quando utilizou-se o sêmen equino diluído em diluidor de leite desnatado – glicose, mantido no contêiner proposto durante $9,4 \pm 2,68$ horas, foi de 75,44%.

Em relação ao sêmen asinino resfriado, somente alguns contêiners tem sido utilizados até o presente momento. Dentre eles, o Equitainer foi utilizado

por Boeta e Quintero (2000), quando obteve-se taxas de concepção de até 76,5% com o sêmen diluído em diluidor à base de leite desnatado UHT e resfriado por até 48 horas. O contêiner proposto por Palhares (1997) foi utilizado por Rossi (2008) e Carvalho (2011). Rossi (2008) obteve taxas de concepção por ciclo de até 52,69% com a utilização do sêmen asinino diluído em diluidor de leite em pó desnatado – glicose e resfriado por até 12 horas, enquanto Carvalho (2011) obteve taxas de até 56,52% também com a utilização de sêmen asinino diluído em diluidor de leite em pó desnatado – glicose. Porém, no último estudo, utilizou-se apenas a fração rica em espermatozoides, sendo que as doses inseminantes permaneceram no contêiner proposto por Palhares (1997) por até 24 horas.

2.3. Fatores capazes de influenciar a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen diluído, resfriado e/ou transportado de jumentos

2.3.1. Efeito da idade da égua

A síndrome do envelhecimento na égua pode incluir fatores endócrinos (Carnevale et al., 1993; 1994), desarranjo das estruturas do oócito (Hunter, 1990; Rambags et al., 2006), alterações dos ambientes tubárico (Brinsko et al., 1994; 1996) e uterino (Carnevale e Ginther, 1992; LeBlanc, 2003) e alterações de conformação vulvar (Greenhoff e Kenney, 1975; Pascoe, 1979), que estão diretamente associados à redução da eficiência reprodutiva. Estas alterações, no entanto, parecem não estar relacionadas ao aumento da ordem de parto, uma vez que éguas utilizadas em esportes como salto e adestramento muitas vezes não são cobertas até serem afastadas do esporte, por volta dos 14 anos e apresentam alterações características do envelhecimento, assim como éguas que

já passaram por várias gestações (Pycck, 2006).

Éguas mais velhas e que tenham passado por várias gestações podem apresentar atraso na limpeza uterina, resultando em endometrite persistente induzida pela cobertura. Diversos fatores podem estar ligados ao desenvolvimento desta patologia como aumento do ângulo com inclinação cranial da vulva; relaxamento dos ligamentos largos resultando em deslocamento ventral do útero no abdômen; comprometimento da drenagem linfática do útero e degeneração vascular do endométrio, que incluem elastose, fibrose e fibroelastose da parede dos vasos, levando à fibrose perivascular e processos de calcificação (LeBlanc, 2003). LeBlanc et al. (1998) demonstraram, através de cintilografia, que éguas com atraso na limpeza do ambiente uterino apresentavam o sistema genital com orientação verticalizada, enquanto as fêmeas reprodutivamente normais possuíam o trato reprodutivo com orientação horizontal. Desta maneira, a posição verticalizada, associada ao deslocamento ventral encontrado nestas fêmeas, contribui para o acúmulo de fluido intrauterino devido à dificuldade de limpeza por gravidade. Portanto, éguas susceptíveis à endometrite persistente induzida pela cobertura devem ser cobertas ou inseminadas apenas uma vez por ciclo estral visando à redução do acúmulo de fluido intrauterino (LeBlanc, 2003).

Carnevale e Ginther (1992) compararam o ambiente uterino e a eficiência reprodutiva de éguas pônei classificadas como éguas novas (entre cinco e sete anos) e éguas velhas (idade superior a 15 anos). Os autores observaram redução da contratilidade e do tônus uterino das éguas velhas, associados ao acúmulo de líquido intrauterino e

endometrite, caracterizada por maior quantidade de infiltrados celulares e fibrose e menor densidade de glândulas endometriais encontrados à histopatologia do endométrio. A taxa de concepção foi menor no grupo de éguas mais velhas, quando observou-se fixação embrionária e perda do formato esférico do embrião mais tardios, ocorrendo até um dia após o observado para o grupo de éguas novas.

Apesar da grande quantidade de alterações no ambiente uterino advindas do envelhecimento, estas não parecem ser as principais responsáveis pela alta incidência de perda embrionária observada em éguas mais velhas. Quando blastocistos morfológicamente normais, nos dias sete ou oito de desenvolvimento foram transferidos para receptoras jovens ou velhas, as taxas de sobrevivência embrionária nos dias 12 e 28 não diferiram entre os dois grupos (Ball e Woods, 1987). Oócitos coletados de éguas velhas e éguas novas foram transferidos para a tuba uterina de éguas receptoras novas, que foram posteriormente inseminadas, resultando em menores taxas de gestação quando os oócitos eram oriundos de fêmeas mais velhas (8/26 e 11/12) (Carnevale e Ginther, 1994). Desta maneira, os efeitos deletérios relacionados à idade da égua sobre a fertilidade devem ser atribuídos, principalmente, a defeitos intrínsecos ao oócito e ao embrião resultante, podendo, as anormalidades, exercerem maior impacto sobre estágios mais avançados da gestação (Ball, 2000).

O embrião equino permanece na tuba uterina das fêmeas por 5 a 6 dias, quando migra para o útero. Diante disto, as tubas são de grande importância para a manutenção da fertilidade das fêmeas equinas. Éguas com idade avançada, no entanto, podem acumular debris celulares no lúmen da tuba uterina levando à obstrução da mesma sem que

haja fibrose. Desta maneira, Allen et al. (2006) utilizaram 15 éguas entre 10 e 21 anos com histórico de infertilidade por até quatro estações de monta sem, no entanto, apresentarem qualquer patologia reprodutiva aparente e, aplicaram, através de laparoscopia, gel contendo PGE₂, visando promover a dilatação da tuba uterina. Das 15 éguas tratadas, 14 se tornaram gestantes na mesma estação ou na estação reprodutiva seguinte.

Carnevale et al. (1993) compararam as características do ciclo estral de éguas entre 15 e 19 anos e éguas de 5 a 7 anos, quando observaram uma redução de 15% da fase folicular do ciclo estral nas éguas mais velhas sem, no entanto, alterar a fase luteal. Tal mudança pode ser atribuída ao aumento precoce de altos níveis de FSH nestas fêmeas, resultando em folículos de tamanho mediano e um folículo dominante maior ao final da fase luteal, bem como a uma menor taxa de crescimento dos folículos durante a fase folicular. O aumento da concentração de FSH, sem alteração da concentração de LH, parece ser o sinal inicial do envelhecimento reprodutivo na égua.

Valle (1997) avaliou a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen equino diluído e resfriado, divididas em quatro faixas etárias (3-6, 7-10, 11-14 e 15-19 anos). As taxas de concepção por ciclo obtidas foram de 62,07%, 63,64%, 52,50% e 29,41%, respectivamente, sendo a menor taxa de concepção observada para o grupo de éguas com maior idade. Já Brandão (2001) não observou diferenças quanto à fertilidade de éguas inseminadas com sêmen equino diluído, entre as diferentes faixas etárias avaliadas (4-6, 7-10, 11-14 e 15-16 anos). Também Rossi (2008), ao trabalhar com 195 ciclos, não observou diferenças entre as taxas de concepção ao primeiro ou por ciclo de fêmeas equinas inseminadas com sêmen asinino

diluído e resfriado entre diferentes faixas etárias estudadas, a saber: de 2,5 a 6 anos, 6,5 a 10 anos, 10,5 a 14 anos e 14,5 a 19 anos.

2.3.2. Efeito da categoria reprodutiva

De modo geral, as éguas podem ser divididas em quatro categorias reprodutivas: potras, éguas solteiras, éguas paridas ou éguas no “cio do potro”, de acordo com seu estado fisiológico e metabólico. As éguas mais férteis são aquelas pertencentes às categorias potra e égua parida, com potencial de fertilidade acima de 70%. Tem sido observado que este potencial diminui com o aumento do número de estações reprodutivas em que a fêmea ficou vazia e, ainda, acompanhando o aumento da idade e da susceptibilidade a infecções uterinas (Von Lepel, 1975). As potras e éguas paridas que ciclam no início da estação reprodutiva são consideradas as fêmeas de maior fertilidade, ao contrário das éguas solteiras que tiveram dificuldade em se tornar gestantes nas estações reprodutivas anteriores.

Nos equinos, para manter-se um intervalo entre partos de 12 meses ou menos, as fêmeas precisam tornar-se gestantes novamente em período inferior a um mês após o parto. O epitélio luminal das éguas, normalmente, é completamente reparado por volta do nono dia após o parto, sendo histologicamente indistinguível do epitélio de uma égua não parida dentro de, aproximadamente, 14 dias após o parto. Na maior parte das éguas, o útero está livre de fluido quando da ocorrência do primeiro estro pós-parto (Gygax et al., 1979). Os ovários das éguas estão inativos no momento do parto, entretanto, a atividade ovariana é imediatamente retomada após a remoção dos efeitos supressores à liberação das gonadotrofinas exercidos pelos

hormônios esteroides produzidos pelo feto e placenta, o que resulta em crescimento folicular em até três dias após o parto. Sendo assim, em quase todas as éguas, o primeiro estro ocorre por volta do décimo dia após o parto com a ovulação ocorrendo até o 18º dia (Matthews et al., 1967).

Em estudo conduzido por Heidler et al (2003) comparou-se a concentração de hormônios metabólicos e reprodutivos em éguas no final da gestação e durante a lactação em relação a éguas não lactantes e não gestantes. Os autores observaram um aumento contínuo da concentração de IGF-1 até o parto, mantendo-se a níveis altos na fase inicial da lactação. Em outras espécies, o IGF-1 estimula a esteroidogênese ovariana, o crescimento folicular e a formação de receptores de LH. Observou-se, ainda, neste experimento, uma redução significativa da concentração de IGF-1 no decorrer da lactação que, associada a uma diminuição na liberação de GH, pode resultar em redução da estimulação ovariana nas éguas após o “cio do potro”, levando a uma maior incidência de estros prolongados e ovulação retardada.

Baixas taxas de gestação no “cio do potro” podem ocorrer em éguas que ovulam precocemente após o parto. Assim, nas éguas em que a ovulação ocorre em 10 dias ou menos a fertilidade é reduzida devido a uma involução uterina incompleta, podendo haver presença de fluido no momento da cobertura e da chegada do embrião ao útero, que ocorre entre cinco e seis dias após a ovulação (Loy, 1980; Bell e Bristol, 1987).

Quanto às potras, apesar da boa fertilidade relatada nesta categoria, a utilização de fêmeas muito novas pode resultar em altas taxas de aborto. Desta maneira, Mitchell e Allen (1975),

avaliaram o desempenho reprodutivo de 137 potras entre 12 e 14 meses, durante quatro estações de monta consecutivas, cobertas pela primeira vez. Os autores obtiveram taxa de concepção de 69,34% (95/137); no entanto, 44 (46,32%) sofreram aborto. Após realização de vários exames, concluiu-se que a causa da alta incidência de abortos foi, principalmente, relacionada à imaturidade das fêmeas. Outra particularidade das potras, descrita por Palhares (1989) é uma maior incidência de atresia folicular (9,29%, 29/312) quando comparadas às demais categorias (2,22%, 23/1035).

Panzani et al. (2007) compararam a taxa de recuperação embrionária de potras de um ano (12 a 16 meses) ou dois anos (24 a 28 meses) e éguas maduras (de 3 a 12 anos). Os autores observaram diferenças entre as taxas de recuperação de embriões entre os três grupos avaliados, que foi de 47,7% (21/44) para o grupo de um ano, 75% (12/16) para as fêmeas de dois anos e 84,6% (22/26) para as éguas maduras. Os grupos não diferiram, no entanto, quanto à taxa de gestação aos 25 dias após a transferência dos embriões para éguas receptoras.

A categoria de éguas solteiras deve ser analisada de forma criteriosa. Podem ser encontradas, nesta categoria, éguas com problemas reprodutivos transitórios ou ainda fêmeas que tenham tido manejo reprodutivo inadequado na estação anterior, sem apresentar quaisquer patologias do sistema reprodutivo. Ferreira (1993) obteve altas taxas de gestação em éguas inseminadas com sêmen asinino para as três categorias avaliadas: 81,8% para as potras, 93,7% para as éguas solteiras e 81,8% para as éguas com “potro ao pé”, destacando-se o bom resultado obtido na categoria de éguas solteiras.

Da mesma maneira, Rossi (2008) não observou diferenças entre as quatro categorias reprodutivas avaliadas, quanto à fertilidade de éguas inseminadas com sêmen de jumentos diluído e resfriado, apesar do grande número de fêmeas utilizadas (141 éguas). As taxas de concepção obtidas foram de 61,54%, 47,13%, 54,76% e 47,17%, respectivamente, para as categorias potra, égua solteira, égua com “potro ao pé” e égua no “cio do potro”.

2.3.3. Efeito do momento da deposição do sêmen em relação à ovulação

O intervalo da monta natural ou da inseminação artificial à ovulação é de grande importância ao estudar-se parâmetros de fertilidade. Quando a inseminação é realizada previamente à ovulação, a fertilização dependerá da viabilidade espermática no sistema genital da fêmea; por outro lado, quando esta é realizada após a ovulação, dependerá da viabilidade do oócito (Silva Filho et al., 1998). A viabilidade espermática no sistema genital da égua sofre influência de vários fatores, tais como do tratamento ao qual o sêmen foi submetido, bem como da individualidade do reprodutor. Desta maneira, a viabilidade espermática encontrada no sistema genital da fêmea equina foi estudada em diversos trabalhos, sendo de 144 horas (Day, 1942), 72 horas (Kamhi e Varadin, 1965) e 24 horas (Laing, 1943). Já a viabilidade do oócito no sistema genital da égua pode ser de 8 a 10 horas (Chang, 1951; Hunter, 1990), tendo sido demonstrado sua viabilidade por até 12 horas após a ovulação (Dantas, 1995).

A viabilidade do oócito equino é influenciada por seu estágio de desenvolvimento, que pode variar entre fêmeas ou entre ciclos de uma mesma fêmea, pois esta pode ovular um oócito

primário, secundário ou em uma fase intermediária de desenvolvimento. Quando o gameta feminino é ovulado na sua forma imatura, o seu desenvolvimento se completará durante a passagem pela tuba uterina, o que prolongará sua vida útil antes do início do processo de degeneração. A degeneração é caracterizada por perda da estabilidade das organelas citoplasmáticas e nucleares quando o oócito se encontra na tuba uterina. Pode ocorrer perda de cromossomos da placa metafisária, devido à desorganização dos pares de microtúbulos, não afetando, no entanto, a continuação da divisão meiótica. Desta maneira, caso o oócito viesse a ser fecundado, poderia haver formação de um zigoto com alterações cromossômicas, resultando em morte embrionária precoce, ou infertilidade. Outra alteração degenerativa encontrada é a falha na liberação do conteúdo dos grânulos corticais no espaço perivitelínico, resultando em polispermia (Hunter, 1990).

Ao utilizarem sêmen equino resfriado a 5°C, Squires et al. (1998) relataram taxas de concepção de 64% para éguas inseminadas 0,9 dias antes da ovulação e de 31 e 41% para éguas inseminadas 2 dias antes da ovulação, com doses inseminantes contendo 1 ou 2 x 10⁹ espermatozoides, respectivamente. Independentemente do número de espermatozoides por dose inseminante, as inseminações realizadas 48 horas antes da ovulação responderam por menor taxa de concepção, quando comparada à inseminação 0,9 dias antes da ovulação com 1 x 10⁹ espermatozoides totais. Desta maneira, os autores concluíram que quanto mais perto da ovulação ocorrer a última inseminação, maior será a taxa de concepção, devido à menor longevidade do sêmen resfriado no sistema genital

das éguas, em relação à do sêmen fresco.

Em um experimento conduzido por Ferreira (1993), utilizou-se sêmen asinino resfriado, quando obteve-se taxas de concepção de 61,8% para as éguas inseminadas 24 a 48 horas antes da ovulação, de 88,9% para as inseminadas até 24 horas antes da ovulação e de 85,7% para as inseminadas até 12 horas após a ovulação, sem que houvesse diferenças entre os dois últimos intervalos que, no entanto, diferiram das inseminações realizadas de 24 a 48 horas antes da ovulação. O efeito do intervalo inseminação-ovulação foi mais marcante quando associado ao número de inseminações artificiais por ciclo. Assim, quando realizou-se apenas uma inseminação, as taxas de concepção obtidas foram de 85% e 53,6% para as éguas inseminadas até 24 horas antes da ovulação ou entre 24 e 48 horas, respectivamente. Por outro lado, Leite (1994) também utilizando sêmen asinino, porém fresco diluído, não observou diferenças quanto à fertilidade de éguas inseminadas até 24 horas ou entre 24 e 48 horas antes da ovulação. Desta maneira, pode haver uma menor viabilidade do sêmen asinino resfriado no sistema genital de éguas quando comparada à do sêmen fresco, assim como nos equinos, conforme proposto por Squires et al. (1998).

Em alguns experimentos foram realizadas inseminações três vezes por semana em dias fixos, visando à redução do trabalho aos finais de semana, utilizando sêmen equino (Palhares, 1997; Silva Filho et al., 1998; Brandão 2001; Xavier, 2006) ou asinino (Rossi, 2008). Como as éguas foram palpadas diariamente, pôde-se estabelecer quatro intervalos entre a última inseminação e a ovulação que atendessem ao protocolo de inseminações em dias fixos da semana,

independentemente do número de inseminações realizadas a cada ciclo: 24P - éguas inseminadas até 24 horas antes da detecção da ovulação; 48P - éguas inseminadas até 48 horas antes da detecção da ovulação; 48PP - éguas inseminadas até 48 horas antes da ovulação e outra inseminação no dia da detecção de sua ocorrência; 72PP - éguas inseminadas até 72 horas antes da ovulação e outra inseminação no dia da detecção da ovulação.

Neste sentido, Palhares (1997), ao utilizar sêmen de um garanhão diluído e resfriado a 5°C, obteve taxas de concepção por ciclo de 46,88% no intervalo 24P, de 54,55% no intervalo 48P, de 63,66% no intervalo 48PP e de 44,44% no intervalo de 72PP, que não diferiram entre si, assim como os demais parâmetros reprodutivos avaliados (eficiência de prenhez, número de ciclos por concepção e de ciclos por égua gestante). Da mesma maneira, Silva Filho et al. (1998), não observaram diferenças entre os intervalos avaliados, obtendo taxas de concepção por ciclo de 54,76%, 39,39%, 55,56% e 55,56%, respectivamente, para os intervalos 24P, 48P, 48PP e 72PP para éguas inseminadas com sêmen equino diluído e resfriado a 14°C.

Ao utilizar o mesmo manejo reprodutivo, Xavier (2006), avaliou o efeito dos intervalos entre a inseminação e a ovulação sobre a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen fresco diluído de um garanhão senil com sêmen de baixa viabilidade. O autor observou que a associação de inseminações pré e pós ovulação respondeu por um aumento nas taxas de concepção, que foram de 85,71% e 100% para os intervalos 48PP e 72PP, respectivamente e de 33,33% e 21,05%, respectivamente, para os intervalos 48P e 24P.

Utilizando o mesmo manejo reprodutivo para a inseminação de éguas com sêmen diluído e resfriado de jumentos, Rossi (2008) obteve taxas de concepção de 46,55% para o intervalo 24P, 45,45% para o intervalo 48P, 50,70% para o intervalo 48PP e de 60,00% para o intervalo 72PP, que não diferiram ($p>0,05$) entre si. Estes resultados são diferentes daqueles obtidos por Ferreira (1993), quando utilizou-se sêmen asinino resfriado. No entanto, este autor trabalhou com tempo de resfriamento de 24 a 48 horas, enquanto Rossi (2008) realizou as inseminações dentro de 12 horas após a coleta do sêmen.

2.3.4. Efeito do número de inseminações artificiais por ciclo estral

Na espécie equina, a fase folicular do ciclo estral é muito variável e inconsistente, o que torna difícil a predição do momento da ovulação e a determinação do final do estro. Portanto, em muitos sistemas de manejo onde se utiliza a inseminação artificial, as fêmeas são inseminadas em dias alternados à partir do segundo ou terceiro dia do estro até o seu término ou detecção da ovulação (Brinsko e Varner, 1993). De maneira geral, a ovulação acontece de 24 a 48 horas antes do término do estro (Pace e Sullivan, 1975).

Um melhor controle reprodutivo, através de palpações transretais, associadas ou não à ultrassonografia, pode ser realizado visando à predição do momento da ovulação e consequente redução do número de inseminações artificiais realizadas por ciclo. Ao reduzir-se o número de inseminações, pode haver aumento da fertilidade resultante da redução dos riscos de contaminação iatrogênica do sistema reprodutivo, especialmente em éguas susceptíveis a endometrites (Brinsko e Varner, 1993). Segundo LeBlanc (2003)

éguas susceptíveis a endometrites devem ser cobertas ou inseminadas apenas uma vez por ciclo visando-se reduzir o acúmulo de fluido intrauterino.

Os agentes farmacológicos indutores da ovulação constituem uma ferramenta importante na predição da ovulação, visto que uma grande parte das éguas ovula em até 48 horas após sua administração; no entanto, a amplitude de ocorrência das ovulações é grande, não eliminando, portanto, a necessidade de acompanhamento folicular frequente (Barbacini et al., 2000; Sieme et al., 2003).

Em um estudo conduzido por Sieme et al. (2003), observou-se diferenças quanto à fertilidade de éguas inseminadas com sêmen equino resfriado uma, duas ou três vezes durante o ciclo, com palpações transretais realizadas a cada 12 horas. As taxas de concepção obtidas foram de 49,7% para éguas inseminadas uma vez, de 56,5% para éguas inseminadas duas vezes e de 71,4% para as fêmeas inseminadas três vezes por ciclo, sendo que os resultados obtidos diferiram entre as fêmeas inseminadas uma ou três vezes, sendo ambos similares aos das éguas inseminadas duas vezes por ciclo. Quando considerou-se, no entanto, apenas os ciclos em que a inseminação foi realizada até 24 horas antes da ovulação, as taxas de concepção não diferiram entre as fêmeas inseminadas uma, duas ou três vezes por ciclo, que foram de 57,7%, 56,5% e 71,4%, respectivamente.

Palhares (1997) não observou diferenças quanto à taxa de concepção de éguas inseminadas com sêmen equino resfriado a 5°C por uma, duas, três ou quatro ou mais vezes por ciclo, quando obteve taxas de concepção por ciclo de 42,86% para uma inseminação, 55,25% para duas inseminações,

47,37% para três inseminações e de 58,33% para quatro ou mais inseminações. Também Valle (1997), ao trabalhar com sêmen equino resfriado não observou diferenças entre as taxas de concepção por ciclo de éguas inseminadas uma, duas, três ou quatro ou mais vezes, que foram de 42,86%, 54,79%, 60,60% e 38,10%, respectivamente.

Em um experimento conduzido por Leite (1994), utilizando o sêmen fresco diluído de jumentos, o número de inseminações por ciclo não exerceu influência sobre a fertilidade das éguas. Já Ferreira (1993), observou aumento da taxa de concepção quando aumentou-se o número de inseminações de uma para duas ou mais vezes, associado à redução do intervalo inseminação-ovulação de 24-48 horas para até 24 horas antes da ovulação. Desta maneira, o efeito do intervalo inseminação ovulação foi mais marcante na presença de apenas uma inseminação, quando obteve-se taxas de concepção de 85% e 53,6%, respectivamente, para as éguas inseminadas até 24 horas antes da ovulação ou entre 24 e 48 horas. Quando foram realizadas duas inseminações por ciclo, não observou-se efeito do intervalo inseminação-ovulação sobre a taxa de concepção das éguas, que foi de 93,75% para as

fêmeas inseminadas até 24 horas antes da ovulação e de 100% para aquelas inseminadas entre 24 e 48 antes da ovulação. Rossi (2008), no entanto, não observou efeito do número de inseminações sobre a fertilidade de éguas inseminadas com sêmen asinino diluído e resfriado a 5°C. As taxas de concepção por ciclo, obtidas neste estudo, foram de 50,00%, 62,07% e 41,03% para éguas inseminadas uma, duas ou três vezes ou mais por ciclo, respectivamente.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Localização, condições climáticas e período experimental

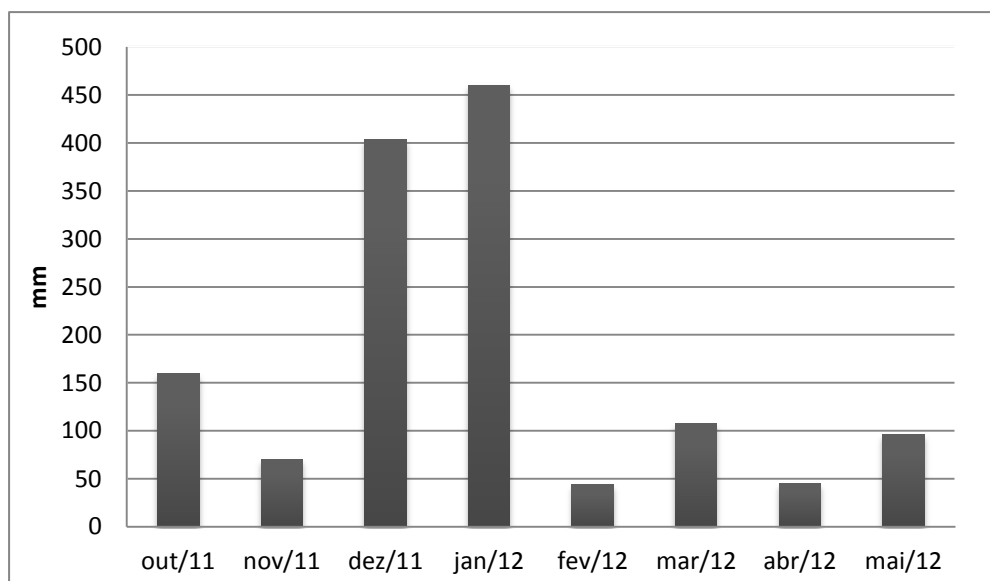
O experimento foi realizado na fazenda Bálsamo, localizada no município de Luz, estado de Minas Gerais, distando 210 km de Belo Horizonte. A fazenda situa-se a 19°45'36" de latitude S e 45°48'08" de longitude W. O município está a uma altitude média de 740 metros e apresenta clima do tipo Cwa, caracterizado 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 2011 e maio de 2012, estando os dados meteorológicos apresentados na tabela 3.1 e a precipitação mensal no gráfico 3.1.

Tabela 3.1: Dados meteorológicos médios no período experimental.

Ano	Mês	Temperaturas médias (°C)		Insolação (horas/dia)
		Máxima	Mínima	
2011	Outubro	36,0	11,2	3,8
	Novembro	32,5	12,2	6,2
	Dezembro	32,1	17,2	3,5
	Janeiro	32,1	17,2	3,9
	Fevereiro	35,3	15,4	8,1
2012	Março	34,6	11,0	6,2
	Abril	33,1	12,2	6,8
	Maio	30,2	8,0	6,7

Fonte: Instituto nacional de meteorologia (INMET) disponível em: www.inmet.gov.br

Gráfico 3.1: Precipitação mensal nos meses de outubro de 2011 a maio de 2012.



Fonte: Instituto nacional de meteorologia (INMET) disponível em: www.inmet.gov.br

3.2. Tratamentos e delineamento experimental

Efeito da diluição do sêmen asinino em dois diluidores à base de leite desnatado UHT e do resfriamento a 5°C sobre a fertilidade de éguas inseminadas

Tratamento I: Éguas inseminadas com sêmen asinino diluído em diluidor leite UHT¹ desnatado - 2,5% de gema de ovo, acrescido de 1g de glicose² (D1), sendo a dose inseminante de 20 mL e 400×10^6 espermatozóides móveis, resfriada a 5°C e estocada por um período de 12 a 18 horas em contêiner proposto por Palhares (1997) (n=81 ciclos);

Tratamento II: Éguas inseminadas com sêmen asinino diluído em diluidor de leite UHT desnatado - 2,5% de gema de ovo, acrescido de 2g de glicose (D2), sendo a dose inseminante de 20 mL e 400×10^6 espermatozóides móveis, resfriada a 5°C e estocada por um período de 12 a 18 horas em contêiner

proposto por Palhares (1997) (n=90 ciclos).

Foram utilizados 171 ciclos de 122 éguas sem raça definida, de 2,5 a 19 anos de idade, distribuídas de forma inteiramente ao acaso, utilizando-se sorteio após o agrupamento por idade e categoria reprodutiva (potra, égua solteira, parida ou no “cio do potro”). As éguas foram inseminadas com sêmen diluído e resfriado de três reprodutores asininos da raça Pêga, nos meses de novembro de 2011 a março de 2012, de acordo com o grupo experimental a que pertenciam. As éguas foram inseminadas até três vezes por semana, a partir da detecção de um folículo de 3,0 cm de diâmetro em um dos ovários até a ovulação.

Nas tabelas 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7 e 3.8 estão apresentadas as distribuições dos ciclos das éguas por jumento e tratamento, considerando-se as variáveis categoria reprodutiva e idade das éguas.

¹ Itambé

² Glicose – D Anidra (Synth)

Tabela 3.2: Distribuição dos ciclos estrais das fêmeas equinas por jumento e tratamento

Tratamento	Jumento			Total
	1	2	3	
TI	27	22	32	81
TII	36	30	24	90
Total	63	52	56	171

Tabela 3.3: Distribuição percentual dos ciclos estrais por jumento de acordo com a categoria reprodutiva das fêmeas equinas, independentemente do diluidor

Categoria reprodutiva	Jumento			Total
	1	2	3	
Potra (1)	5,26(9/171) ¹	4,09(7/171)	7,02(13/171)	16,37(28/171)
Égua solteira (2)	18,71(32/171)	13,45(23/171)	17,54(30/171)	49,71(85/171)
Égua parida (3)	6,43(11/171)	8,19(14/171)	5,26(9/171)	19,88(34/171)
“Cio do potro” (4)	6,43(11/171)	4,68(8/171)	2,92(5/171)	14,04(24/171)
Total	36,84(63/171)	30,41(52/171)	32,75(56/171)	100,00(171/171)

¹ Número observado/número total

Tabela 3.4: Distribuição percentual dos ciclos estrais por jumento de acordo com a idade das fêmeas equinas, independentemente do diluidor

Idade das fêmeas equinas	Jumento			Total
	1	2	3	
2,5 – 5,0 anos	7,02(12/171) ¹	5,85(10/171)	10,53(18/171)	23,39(40/171)
6,0 – 10 anos	12,28(21/171)	9,36(16/171)	11,70(20/171)	33,33(57/171)
11 – 14 anos	13,45(23/171)	9,94(17/171)	5,85(10/171)	29,24(50/171)
≥ 15 anos	4,09(7/171)	5,26(9/171)	4,68(8/171)	14,04(24/171)
Total	36,84(63/171)	30,41(52/171)	32,75(56/171)	100,00(171/171)

¹ Número observado/número total

Tabela 3.5: Distribuição percentual dos ciclos estrais por diluidor de acordo com a categoria reprodutiva das fêmeas equinas, independentemente do jumento.

Categoria reprodutiva	Diluidor		Total
	1	2	
Potra (1)	8,77(15/171) ¹	7,60(13/171)	16,37(28/171)
Égua solteira (2)	23,98(41/171)	25,73(44/171)	49,71(85/171)
Égua parida (3)	7,60(13/171)	12,28(21/171)	19,88(34/171)
“Cio do potro” (4)	7,02(12/171)	7,02(12/171)	14,04(24/171)
Total	47,37(81/171)	52,63(90/171)	100,00(171/171)

¹ Número observado/número total

Tabela 3.6: Distribuição percentual dos ciclos estrais por diluidor de acordo com a idade das fêmeas equinas, independentemente do jumento.

Idade das fêmeas equinas	Diluidor		Total
	1	2	
2,5 – 5,0 anos	12,28(21/171) ¹	11,11(19/171)	23,39(40/171)
6,0 – 10 anos	16,37(28/171)	16,96(29/171)	33,33(57/171)
11 – 14 anos	9,94(17/171)	19,30(33/171)	29,24(50/171)
≥ 15 anos	8,77(15/171)	5,26(9/171)	14,04(24/171)
Total	47,37(81/171)	52,63(90/171)	100,00(171/171)

¹ Número observado/número total

Tabela 3.7: Distribuição percentual dos ciclos estrais por diluidor e jumento de acordo com a categoria reprodutiva das fêmeas equinas.

Categoria reprodutiva	DI			DII			Total
	Jumento			Jumento			
	1	2	3	1	2	3	
Potra (1)	1,75(3/171) ¹	3,51(6/171)	1,75(3/171)	2,34(4/171)	5,26(9/171)	1,75(3/171)	16,37(28/171)
Égua solteira (2)	8,77(15/171)	9,94(17/171)	6,43(11/171)	7,02(12/171)	8,77(15/171)	8,77(15/171)	49,71(85/171)
Égua parida (3)	2,92(5/171)	3,51(6/171)	1,75(3/171)	6,43(11/171)	2,92(5/171)	2,34(4/171)	19,88(34/171)
“Cio do potro” (4)	2,34(4/171)	4,09(7/171)	2,92(5/171)	1,75(3/171)	1,75(3/171)	1,17(2/171)	14,04(24/171)
Total	15,79(27/171)	21,05(36/171)	12,87(22/171)	17,54(30/171)	18,71(32/171)	14,04(24/171)	100,00(171/171)

¹. Número observado/número total

Tabela 3.8: Distribuição percentual dos ciclos estrais por diluidor e jumento de acordo com a idade das fêmeas equinas.

Idade das fêmeas equinas	DI			DII			Total
	Jumento			Jumento			
	1	2	3	1	2	3	
2,5 – 5,0 anos	2,92(5/171) ¹	4,09(7/171)	2,34(4/171)	3,51(6/171)	7,02(12/171)	3,51(6/171)	23,39(40/171)
6,0 – 10 anos	6,43(11/171)	5,85(10/171)	4,09(7/171)	5,26(9/171)	5,85(10/171)	5,85(10/171)	33,33(57/171)
11 – 14 anos	4,68(8/171)	8,77(15/171)	2,92(5/171)	7,02(12/171)	2,34(4/171)	3,51(6/171)	29,24(50/171)
≥ 15 anos	1,75(3/171)	2,34(4/171)	3,51(6/171)	1,75(3/171)	3,51(6/171)	1,17(2/171)	14,04(24/171)
Total	15,79(27/171)	21,05(36/171)	12,87(22/171)	17,54(30/171)	18,71(32/171)	14,04(24/171)	100,00(171/171)

¹. Número observado/número total

3.3. Manejo reprodutivo e nutricional das éguas

Foram utilizadas 122 fêmeas equinas, pertencentes a diferentes categorias reprodutivas: potras, éguas solteiras, paridas ou no “cio do potro”, com idades variando entre 2,5 e 19 anos. No início da estação reprodutiva, todas as potras, éguas solteiras e paridas, a partir do 6º dia após o parto, foram submetidas à avaliação ginecológica sistemática, compreendendo o exame da genitália externa, palpação do útero e dos ovários e avaliação ultrassonográfica³.

Durante a estação reprodutiva, as éguas foram submetidas à 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 palpações foram realizadas em seis troncos de contenção individuais, construídos lado a lado, localizados em curral coberto, de forma a facilitar o manejo, uma vez ser possível conter, examinar ou inseminar até seis fêmeas simultaneamente (Figuras 3.1 e 3.2).

Na presença de um folículo com diâmetro igual ou superior a 3,0 cm, associado à presença de edema uterino, aplicava-se 1667 UI de gonadotrofina coriônica humana (hCG⁴) como agente indutor da ovulação. Foi estabelecida uma classificação subjetiva (1-3) para o edema uterino das éguas utilizadas neste experimento, onde o grau 1 correspondeu à presença de discreto edema uterino e o grau 3, ao edema uterino máximo (Figura 3.6).

Além da hCG, durante a estação de monta utilizou-se a prostaglandina⁵ sintética (Dinoprost Trometamina) como auxiliar no controle reprodutivo. Assim, as éguas que apresentavam corpo lúteo em um dos ovários, detectado por ultrassonografia, no início do acompanhamento reprodutivo ou após o diagnóstico de gestação negativo, recebiam 1,5mL de prostaglandina por via intramuscular.

Éguas que apresentavam acúmulo de fluido intrauterino durante o acompanhamento reprodutivo ultrassonográfico (Figura 3.6) receberam 10 UI de ocitocina⁶ por via intramuscular associada a 1,5 mL de prostaglandina, diariamente até o desaparecimento do fluido intrauterino. Estes medicamentos foram aplicados, nos dias de realização das inseminações artificiais, no mínimo, quatro horas após o procedimento, de forma a permitir o estabelecimento de um adequado reservatório espermático.

As éguas que não se tornaram gestantes após três ciclos consecutivos, foram submetidas à antibioticoterapia sistêmica, utilizando-se 20 mL de gentamicina⁷ por via intramuscular, durante cinco dias.

Os diagnósticos de gestação foram realizados por ultrassonografia a partir do 11º dia pós-ovulação (Figura 3.6). Cada égua positiva foi submetida a, pelo menos, quatro diagnósticos de gestação subsequentes, a intervalos de, aproximadamente, uma semana. Éguas que sofreram perda embrionária até os 35 dias de gestação foram re-inseminadas. As anotações foram realizadas em ficha própria (Anexo 7A).

Durante todo o período experimental as fêmeas foram mantidas a pasto onde predominavam as gramíneas Mombaça (*Panicum Maximum*) e Humidícola (*Brachiaria humidicola*). As éguas

³ Ultra-som Modelo DP2200, probe 7,5mHz (Mindray)

⁴ Vetecor® (Hertape Calier) ou CHORULON® (MSD Saúde Animal)

⁵ Lutalyse® (Pfizer)

⁶ Placentex® (Agener União)

⁷ Pangram 10%® (Virbac)

foram, ainda, suplementadas com 1 kg de ração farelada preparada na própria fazenda, contendo farelo de urucum, farelo de milho e farelo de trigo (na

proporção 1:1:1), com 11% de proteína, 0,22% de cálcio, 0,45% de fósforo e 3913 kcal/kg, além de fornecimento de água e sal mineral⁸ *ad libitum*.

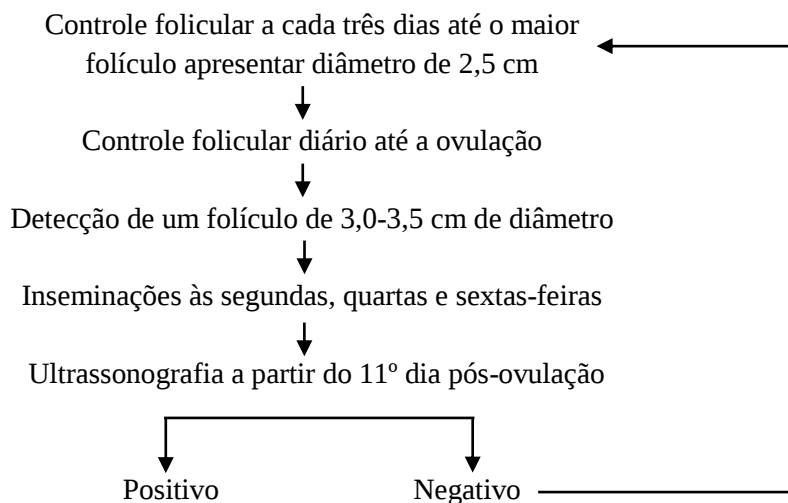


Figura 3.1: Organograma de controle reprodutivo das éguas, adaptado de Palhares (1987).

3.4. Manejo reprodutivo e nutricional dos reprodutores

Foram utilizados para o experimento três reprodutores da raça Pêga com idades de 12, 12 e 14 anos, para os reprodutores 1, 2 e 3, respectivamente. Previamente ao início da estação reprodutiva, os reprodutores foram submetidos a exame andrológico, compreendendo a avaliação da genitália externa, das características físicas do sêmen e morfológicas dos espermatozoides.

Os reprodutores foram mantidos em baias medindo 12 m², sendo soltos de forma alternada em piquetes, com fornecimento de 4 kg de ração peletizada⁹ contendo 12% de proteína, 0,5% de fósforo e 1,6% de cálcio, além de capim picado (*Panicum Maximum*), água e sal mineral *ad libitum*.

3.5. Diluidores utilizados

Foram utilizados dois diluidores à base de Leite Desnatado UHT acrescidos de 2,5% de gema de ovo, diferindo entre si

pela quantidade de glicose utilizada, sendo 1g para o diluidor 1 (D1) e 2g para o diluidor 2 (D2). A composição dos diluidores está apresentada na tabela 3.9.

Os diluidores foram preparados no dia da coleta, adicionando-se 2,5% de gema de ovo ao Leite Desnatado UHT, além de 100.000 UI de penicilina¹⁰ para cada 100 mL de diluidor, após o que era acrescentada a glicose na concentração desejada. O leite foi utilizado, no máximo, um mês após o processamento, indicado na embalagem pelo fabricante. Para a separação da gema, os ovos foram lavados e desinfetados com álcool antes de serem quebrados. Parte da clara foi descartada na quebra dos ovos, sendo o restante eliminado pela passagem da gema em papel filtro qualitativo¹¹. Após a retirada de toda a clara, a gema foi então rompida e misturada ao leite desnatado UHT. Somente após a homogeneização da solução foi adicionada a glicose (Figura 3.4).

⁸ Vacci-Phos Equinos® (Vaccinar)

⁹ Equitage 12 (Guabi)

¹⁰ Cristacilina® (Novafarma)

¹¹ Qualy®

A quantidade de diluidor a ser preparado era calculada de acordo com o número de éguas a serem

inseminadas, considerando-se o tratamento e reprodutor a serem utilizados.

Tabela 3.9: Composição dos diluidores utilizados

Ingredientes	Glicose 1g (D1)	Glicose 2g (D2)
Leite desnatado UHT (mL)	97,5	97,5
Glicose (g)	1,0	2,0
Penicilina G potássica (UI)	100.000	100.000
Gema de ovo (mL)	2,5	2,5
pH	6,42	6,22
Osmolaridade (mOsm)	336	375

3.6. Coleta, avaliação, diluição e resfriamento do sêmen

As coletas foram realizadas utilizando-se como manequim uma fêmea em cio, contida através de peias de contenção, em curral coberto, protegido do sol e da chuva (Figura 3.3). Para a coleta do sêmen, utilizou-se vagina artificial modelo Hannover. Após a sua montagem, internamente à vagina, utilizou-se uma luva¹² de palpação transretal, com extremidade distal (mão) cortada, de forma a evitar o contato do sêmen com a camisa de látex. Desta forma, a extremidade anterior e o interior da vagina ficavam cobertos pela luva plástica de palpação retal, sendo na extremidade posterior fixada uma mamadeira com uma tampa larga vazada. Por dentro da mamadeira, colocava-se um saquinho plástico estéril (mamadeira¹³ descartável de bebê) graduado, com capacidade de 250 mL. Finalmente, acoplava-se na tampa da mamadeira um filtro descartável de coleta de sêmen suíno¹⁴, utilizado para reter a fração gelatinosa do sêmen. Antes da coleta, a vagina artificial foi preenchida com água à temperatura de 50°C. Em seguida, seu interior foi lubrificado com gel¹⁵ à base de água.

As coletas foram realizadas em dias fixos (domingos, terças e quintas feiras), a partir das 17 horas, sendo as inseminações executadas às segundas,

quartas e sextas feiras pela manhã, de modo que o tempo de estocagem do sêmen a 5°C compreendesse um intervalo de 12 – 18 horas.

Após a coleta do sêmen, a vagina artificial foi esvaziada e encaminhada ao laboratório, sendo a mamadeira descartável contendo o sêmen imediatamente retirada e colocada em banho maria a 37°C. Para o cálculo da concentração espermática, utilizou-se volume de 50 µL de sêmen diluído em 5 mL de solução formol salina tamponada (1:100), sendo esta solução bem homogeneizada antes do preenchimento da câmara de Neubauer que, por sua vez, era deixada em repouso por cinco minutos antes da contagem dos espermatozoides. Durante este período, realizou-se a avaliação da motilidade total, expressa em percentual de células móveis/campo (0 - 100) e do vigor, baseando-se na velocidade de deslocamento das células pelos campos avaliados (0 - 5), utilizando-se um microscópio óptico, com aumento de 100 e 400 vezes. Uma gota de sêmen a fresco, colocada entre lâmina e lamínula, previamente aquecidas a 37°C em placa aquecedora era avaliada (Figura 3.4).

A seguir, foi calculada a concentração contando-se as células espermáticas nos dois lados da câmara de Neubauer, em microscopia óptica com aumento de 400

¹² TNB Brasil

¹³ Playtex, Parent's Choice – Bottle Liners

¹⁴ Filtro descartável - Minitub

¹⁵ KY Gel® (Johnson & Johnson)

vezes. Quando a diferença entre as duas contagens ultrapassava os 10%, o exame era refeito. O valor médio das duas contagens foi multiplicado por 5×10^6 , para obter-se o número de espermatozoides/mL do ejaculado. Após a realização da concentração espermática, foram feitos cálculos em ficha própria (anexo 7B) para se determinar o volume de sêmen da dose inseminante responsável pelo fornecimento de uma concentração fixa de 400 milhões de espermatozoides móveis em 20 mL, após a diluição final. Assim, no banho maria a 37°C, ficavam duas mamadeiras tampadas, cada qual com a dose total de diluidor puro, de cada tratamento. Com pipeta graduada foi retirada, de cada mamadeira, a quantidade de sêmen a ser incorporado. O tempo até a diluição foi então anotado, sendo registrados, nesse momento, a motilidade (0-100%) e vigor (0-5) do sêmen após a diluição. Neste momento, foram retiradas, ainda, amostras para morfologia do sêmen fresco e diluído, sendo as amostras do sêmen diluído e resfriado retiradas após as inseminações. Estas foram devidamente acondicionadas em ependorffs contendo solução de formol salina tamponada para posterior avaliação em microscopia de contraste de fase com aumento de 1000 vezes.

Após a diluição, as doses foram envasadas individualmente em tubos de vidro com capacidade de 22 mL. Os tubos, identificados de acordo com o tratamento referente às doses, foram preenchidos por completo, de forma a minimizar o ar residual, para então serem selados com filme de PVC¹⁶. Os tubos foram, a seguir, colocados no contêiner (Palhares, 1997), após o que era colocado o centro refrigerador. Em seguida, foi imediatamente fechado, anotando-se o horário em ficha própria (Anexo 7B). Na tampa, colocou-se uma fita com o nome do reprodutor referente

àquele contêiner, exclusivo para cada macho, que permaneceu no laboratório, fechado, até o momento da inseminação (Figura 3.5).

O contêiner proposto por Palhares (1997) é composto por seis orifícios laterais, onde são inseridos os tubos de vidro contendo as doses inseminantes, e um orifício central, de diâmetro maior onde é 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.

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 3.5). Como solução refrigeradora utilizou-se Cryogel¹⁷, num volume de 600 mL e mantido em freezer de geladeira comum por, no mínimo, 36 horas.

3.7. Inseminação artificial

As inseminações artificiais foram realizadas as segundas, quartas e sextas feiras pela manhã, sendo as éguas colocadas nos troncos de contenção em lotes de seis fêmeas, de acordo com o jumento a ser utilizado, para evitar trocas indevidas (Figura 3.2).

Antes das inseminações, realizou-se a higienização da região perineal de cada égua, com água e sabão de coco, seguida de secagem com papel toalha. O inseminador calçava a luva invertida, sendo a mão enluvada lubrificada com solução de ringer com lactato de sódio. A ponta da pipeta¹⁸ de inseminação foi protegida dentro da mão quando da sua introdução na cavidade vaginal. A pipeta foi então direcionada, através do óstio externo do cérvix, até alcançar o corpo do útero. A seringa de 20 mL, contendo a dose inseminante, foi

¹⁶ Boreda; filme de PVC transparente – Alumipack Indústria de Embalagens Ltda.

¹⁷ 3M do Brasil Ltda

¹⁸ PROVAR Produtos Veterinários

acoplada na porção posterior da pipeta, sendo o conteúdo depositado no local desejado. A seringa vazia foi preenchida com 5 mL de ar e novamente encaixada na pipeta, de forma a empurrar o sêmen residual da mesma. Posteriormente, retirou-se a mão com a pipeta protegida, e realizou-se a massagem do clitóris. A hora da inseminação de cada égua foi imediatamente anotada em ficha própria (Anexo 7B).

3.8. Análise estatística

Quatro subdivisões (A, B, C, D) foram realizadas dentro dos grupos experimentais, para a análise dos dados, visando-se estudar:

A) Efeito da idade das fêmeas equinas sobre a fertilidade.

As fêmeas foram divididas em faixas etárias para comporem os seguintes agrupamentos, quando avaliou-se o efeito da idade sobre a fertilidade:

1. Fêmeas com idades de 2,5 a 5 anos (n = 40);
2. Fêmeas com idades de 6 a 10 anos (n = 57);
3. Fêmeas com idades de 11 a 14 anos (n = 50);
4. Fêmeas com idades maiores ou iguais a 15 anos (n = 24).

B) Efeito da categoria reprodutiva das fêmeas equinas sobre a fertilidade.

As fêmeas foram agrupadas de acordo com a categoria reprodutiva a que pertenciam e analisadas quanto à fertilidade:

1. Potra: Fêmeas jovens que nunca gestaram (n = 28);
2. Égua solteira: Éguas vazias da estação anterior (n = 85);
3. Égua parida: Éguas com potro ao pé, inseminadas em um período acima de 20 dias após o parto (n = 34);

4. Égua no “cio do potro”: Éguas com potro ao pé, inseminadas em um período inferior a 20 dias após o parto (n = 24).

C) Efeito do intervalo da inseminação artificial (IA às segundas, quartas e sextas-feiras) até a ovulação, sobre a fertilidade das éguas, por meio dos agrupamentos:

1. 24 horas pré-ovulação (24P): todos os ciclos em que a ovulação foi detectada as terças, quintas e sábados, ou seja, a IA foi realizada em um período de até 24 horas antes da ovulação (n = 56);
2. 48 horas pré-ovulação (48P): todos os ciclos em que a ovulação foi detectada aos domingos, ou seja, a IA foi realizada em um período de até 48 horas antes da ovulação (n = 35);
3. 48 horas pré-ovulação e mais uma IA realizada em um período de até 24 horas pós-ovulação (48PP): todos os ciclos em que a ovulação foi detectada as quartas e sextas-feiras, ou seja, o intervalo entre as duas últimas inseminações foi de 48 horas (n = 64);
4. 72 horas pré-ovulação e mais uma IA realizada em um período de até 24 horas pós-ovulação (72PP): todos os ciclos em que a ovulação foi detectada as segundas-feiras, ou seja, o intervalo entre as duas últimas inseminações foi de 72 horas (n = 16).

D) Efeito do número de inseminações artificiais por ciclo sobre a fertilidade.

Avaliou-se o efeito do número de IAs/ciclo sobre a fertilidade, dentro dos grupos experimentais, de acordo com os seguintes agrupamentos:

1. Uma IA/ciclo (n = 52);
2. Duas IAs/ciclo (n = 97);
3. Três ou mais IAs/ciclo (n = 22).

Para os delineamentos propostos, foram estudadas as seguintes características reprodutivas:

- número de ciclos: refere-se ao número de repetições (“n”) utilizado em cada tratamento;
- idade: idade média das éguas em cada tratamento, sendo todas as fêmeas avaliadas por cronologia dentária ao início da estação reprodutiva;
- número de ciclos/égua: refere-se ao número de ciclos utilizados de cada égua;
- número de ciclos/égua gestante: refere-se ao número de ciclos por égua necessários para que cada fêmea ficasse gestante;
- número de IA/ciclo: refere-se ao número médio de inseminações artificiais realizadas por ciclo, considerando-se todos os ciclos de cada tratamento (positivos e negativos);
- número de IA/ciclo positivo: refere-se ao número médio de inseminações artificiais realizadas por ciclo, considerando-se apenas os ciclos que resultaram em gestação;
- número de IA/ciclo negativo: refere-se ao número médio de inseminações artificiais realizadas por ciclo, considerando-se apenas os ciclos que não resultaram em gestação;
- número de ciclos/gestação: refere-se ao número de ciclos necessários para a obtenção de cada gestação;
- taxa de gestação/ciclo: refere-se ao número de éguas gestantes em relação ao número de éguas trabalhadas em cada ciclo (valor percentual);
- taxa de gestação total: refere-se ao número de éguas gestantes em relação ao número de éguas trabalhadas em cada tratamento (valor percentual);
- eficiência de prenhez: Por esse método, atribuíram-se pontos a cada ciclo inseminado, da seguinte forma: dez pontos para a gestação no primeiro ciclo; oito para a gestação no segundo ciclo; seis para o terceiro ciclo; quatro para o quarto ciclo e zero para os ciclos em que não houve gestação. Dessa forma, obteve-se um valor numérico médio para cada grupo experimental, denominado de Eficiência de Prenhez (Voss et al., 1975);
- volume de sêmen/dose inseminante: volume médio de sêmen utilizado em cada tratamento, dependente da concentração espermática de cada ejaculado;
- volume de diluidor/dose inseminante: volume médio de diluidor utilizado em cada tratamento, dependente do volume de sêmen/dose inseminante;
- concentração espermática à IA: número total de espermatozoides móveis na dose inseminante no momento da IA;
- motilidade espermática à IA: percentual de espermatozoides móveis na dose inseminante no momento da IA (0-100%);
- vigor espermático à IA: vigor espermático da dose inseminante no momento da IA (0-5);
- tempo coleta-diluição: tempo, em minutos, decorrido entre a coleta do sêmen e o momento da sua diluição com o diluidor determinado;
- tempo coleta-resfriamento: tempo, em minutos, decorrido entre a coleta do sêmen e o momento do fechamento do contêiner para início do resfriamento das doses inseminantes;
- tempo coleta-abertura contêiner: tempo decorrido, em horas, entre a

coleta do sêmen e o momento da abertura do contêiner, transcorrido o mínimo de 12 horas de armazenamento das doses inseminantes;

- tempo resfriamento-IA: tempo decorrido entre o início do resfriamento do sêmen e a inseminação artificial de cada égua;
- tempo coleta-IA: tempo decorrido entre a coleta do sêmen e o momento da inseminação artificial de cada égua.

Os resultados do experimento serão 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. De acordo com o autor, definem-se como parâmetros de controle aqueles que prestam apenas informação sobre a homogeneidade dos tratamentos, não constituindo em si resultados dos experimentos e incluem: número de éguas, número de ciclos, idade da égua, número de ciclos/égua, número de IA/ciclo, número de IA/ciclo positivo, número de IA/ciclo negativo, volume de sêmen/dose inseminante, volume de diluidor/dose inseminante, concentração espermática à IA, motilidade espermática à IA, vigor espermático à IA, tempo coleta-diluição, tempo coleta-resfriamento, tempo coleta-abertura do contêiner, tempo resfriamento-IA, tempo coleta-IA. Os parâmetros de resultados traduzem os resultados dos trabalhos, sendo representados pelas seguintes variáveis: número de IA/ciclo positivo, número de IA/ciclo negativo, número de ciclos/concepção, taxa de concepção/ciclo, número de ciclos/égua gestante e eficiência de prenhez.

As variáveis numéricas foram testadas quanto à normalidade, pelo procedimento “Proc Univariate Normal (SAS, 1997)” e avaliadas quanto à

probabilidade ($p > 0,05$) de normalidade. Variáveis com distribuição não paramétrica foram transformadas pelo $\log(x+1)$ ou, quando os valores eram percentuais, pelo $\arcseno\sqrt{x}$. Estas transformações objetivaram a homocedasticidade das variáveis. Após transformação, os dados foram novamente submetidos ao “Proc Univariate” para verificação do efeito da transformação sobre a normalidade. Como a transformação não teve efeito sobre a normalidade das variáveis, estas foram comparadas pelo teste de Kruskal-Wallis (três ou mais médias) ou pelo teste de Wilcoxon (duas médias) (Tabela 3.10).

Os dados proporcionais (taxa de concepção ao primeiro ciclo, taxa de concepção/ciclo, taxa de concepção total), referentes à fertilidade, foram avaliados pelo teste de Qui-Quadrado.

Todas as análises foram realizadas pelo programa Statistical Analyses Systems (SAS, 1997), após tabulação em programa Excel[®]. Considerou-se a probabilidade de 95% ($p < 0,05$) para significância.

Tabela 3.10: Valores de probabilidade, no teste de normalidade, brutos e após transformação para todas as variáveis e teste estatístico aplicado.

Variável	Valores de probabilidade (p) Teste de normalidade		Teste estatístico utilizado
	Dados brutos	Após transformação	
Número de ciclos por égua	0,0001	0,0001	KW ou Wilcoxon
Idade das éguas	0,0001	0,0001	KW ou Wilcoxon
Volume de sêmen por dose inseminante	0,0001	0,0001	KW ou Wilcoxon
Volume de diluidor por dose inseminante	0,0001	0,0001	KW ou Wilcoxon
Concentração espermática à IA	0,0001	0,0001	KW ou Wilcoxon
Motilidade espermática à IA		0,0001	KW ou Wilcoxon
Tempo coleta-diluição do sêmen	0,0001	0,0001	KW ou Wilcoxon
Tempo coleta-resfriamento do sêmen	0,0001	0,0001	KW ou Wilcoxon
Tempo coleta-abertura do contêiner	0,0001	0,0001	KW ou Wilcoxon
Tempo resfriamento-IA	0,0001	0,0001	KW ou Wilcoxon
Tempo coleta-IA	0,0001	0,0001	KW ou Wilcoxon
Número de IA por ciclo	0,0001	0,0001	KW ou Wilcoxon
Número de IA por ciclo positivo	0,0001	0,0001	KW ou Wilcoxon
Número de IA por ciclo negativo	0,0001	0,0001	KW ou Wilcoxon
Eficiência de prenhez	0,0001	0,0001	KW ou Wilcoxon



Figura 3.2: A,B,C,D: Troncos utilizados para contenção das éguas; E,F: Éguas sem raça definida utilizadas no experimento



Figura 3.3: A: Piquetes onde eram soltos os reprodutores; B,D: Jumenta em cio contida através de peias de contenção; C: Égua em cio contida através de peias de contenção; E: Realização de coleta utilizando, como manequim, fêmea em cio contida através de peias de contenção.



Figura 3.4: A,B: Preparação dos diluidores, ovos lavados e esterilizados com álcool, separação da gema com passagem por papel filtro; C,D: Material utilizado para avaliação do sêmen e preparação das doses inseminantes; E,F: Diluição do sêmen com a utilização de pipeta graduada



Figura 3.5: A,D: Tubos de vidro contendo as doses individualizadas, identificadas e colocadas no contêiner; B: Centro refrigerador colocado no contêiner após os tubos contendo as doses; C: Fechamento do contêiner e identificação quanto aos reprodutores; E: Contêiner proposto por Palhares (1997).

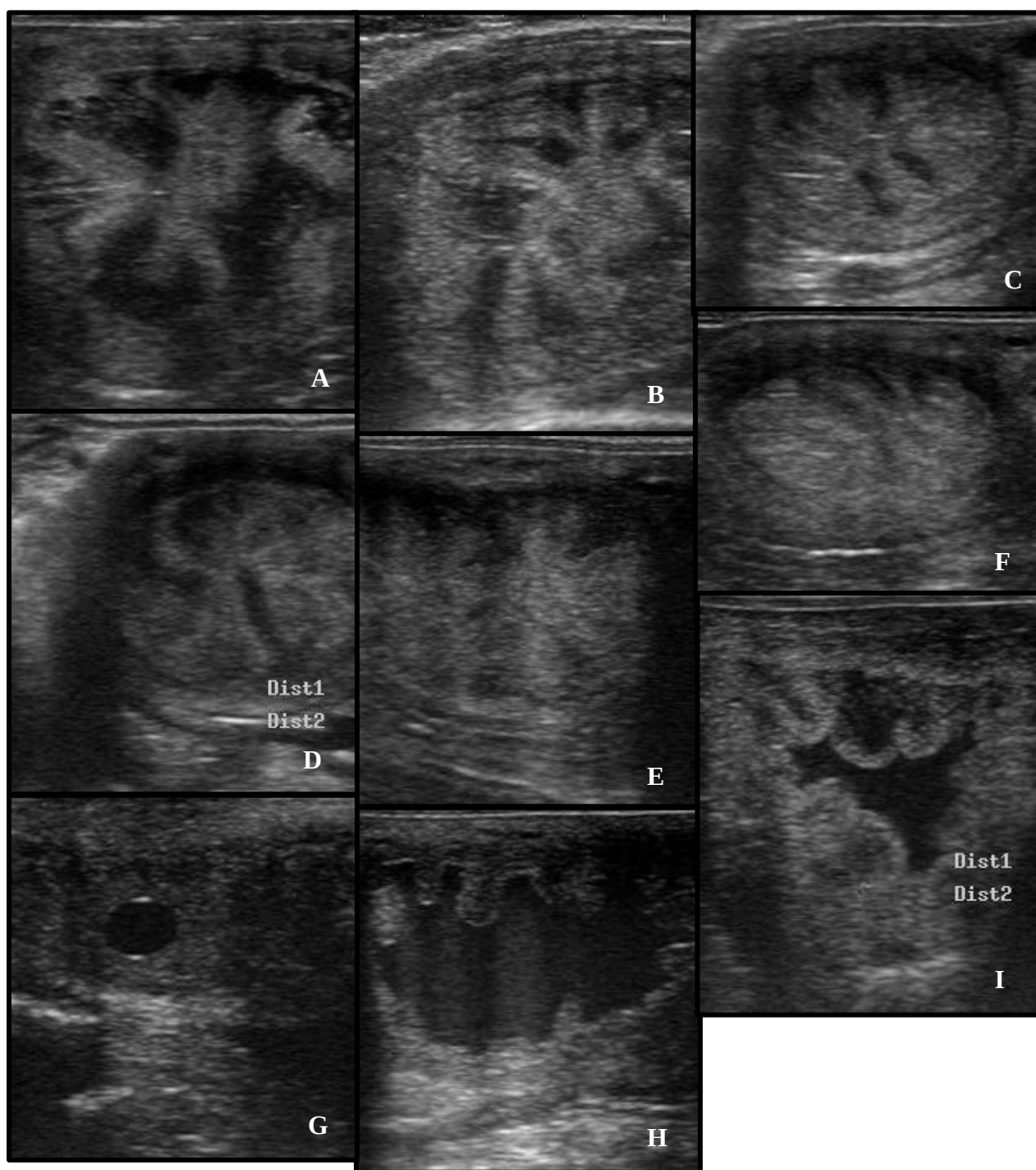


Figura 3.6: Classificação do edema uterino intramural: A,B: Edema grau 3; C,D: Edema grau 2; E,F: Edema grau 1; G: Vesícula embrionária aos 11 dias de gestação; H,I: Acúmulo de líquido intrauterino.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Efeito de dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo e diferentes concentrações de glicose e do resfriamento a 5°C sobre as características físicas do sêmen de jumentos e a fertilidade de fêmeas equinas inseminadas

4.1.1. Características físicas do sêmen fresco, fresco diluído e resfriado de jumentos.

Foram realizadas 105 coletas de três jumentos da raça Pêga, durante a estação reprodutiva, estando os dados referentes às características físicas do sêmen e das doses inseminantes apresentados na tabela 4.1.

Foram observadas diferenças ($p < 0,05$) entre os reprodutores para todos os parâmetros avaliados no sêmen fresco (tabela 4.1), embora estivessem dentro dos padrões estabelecidos para a espécie asinina segundo diferentes autores (Ferreira, 1993; Leite, 1994; Moraes et al., 1994; Santos, 1994; Henry et al., 1999; Rossi, 2008).

O número de espermatozoides totais e móveis por ejaculado foi maior para o reprodutor 1 em relação aos demais, que foram similares entre si, resultando em maior número potencial de éguas inseminadas por ejaculado. Além disto, observou-se, para este reprodutor, menor volume de sêmen livre de gel e, consequentemente, maior número de espermatozoides por mL de sêmen. Os valores de motilidade e vigor

espermáticos, apesar de terem diferido ($p < 0,05$) entre os machos, estão dentro da normalidade para os três jumentos. Há que se salientar, ainda, que o valor médio de motilidade espermática registrado, no presente experimento ($88,71 \pm 0,32$) foi superior aos observados por Moraes et al. (1994), Ferreira (1993) e Rossi (2008). Ao trabalhar com jumentos da raça Pêga, Rossi (2008) observou, também, grande variação individual entre os reprodutores quanto ao volume de sêmen, número de espermatozoides totais e móveis por ejaculado, concentração de espermatozoides totais e móveis por mL e motilidade espermática do sêmen *in natura*. Da mesma forma, Carvalho (2011), ao realizar a coleta fracionada do sêmen de jumentos, observou, na fração rica em espermatozoides, grande variação entre os reprodutores para todos os parâmetros avaliados no sêmen fresco.

Como utilizou-se, no presente experimento, uma concentração fixa de espermatozoides móveis por dose inseminante (aproximadamente 400×10^6 espermatozoides/dose), o volume de sêmen por dose inseminante utilizado diferiu ($p < 0,05$) entre os três reprodutores, sendo menor para o jumento 1, acompanhando o maior número de espermatozoides por mL de sêmen. Assim, o volume de diluidor por dose inseminante e a taxa de diluição foram maiores ($p < 0,05$) para este reprodutor, quando utilizou-se menor volume de sêmen para um volume fixo de 20 mL por dose inseminante.

Tabela 4.1: Desempenho reprodutivo, características físicas do sêmen a fresco e das doses inseminantes utilizadas no experimento

Parâmetros Avaliados	Jumento			Total
	1	2	3	
Número de ejaculados	40	35	30	105
Intervalo médio entre coletas de sêmen (dias)	2,75±0,40	3,00±0,49	2,63±0,27	2,80±0,23
Características físicas do sêmen fresco				
Volume de sêmen sem gel (mL)	52,07±2,43 ^c	77,66±5,77 ^b	96,12±4,08 ^a	73,19±2,99
Motilidade Total (0-100%)	90,00±0,18 ^a	88,86±0,58 ^a	86,83±0,74 ^b	88,71±0,32
Vigor (0-5)	5,00±0,00 ^a	5,00±0,00 ^a	4,88±0,04 ^b	4,97±0,01
Número de espermatozoides/mL (x10 ⁶)	217,16±9,25 ^a	98,29±6,93 ^b	63,29±3,07 ^c	133,57±7,83
Número de espermatozoides móveis/mL (x10 ⁶)	195,95±8,29 ^a	87,89±6,48 ^b	55,04±2,54 ^c	119,67±7,14
Número de espermatozoides/ejaculado (x10 ⁶)	10907,80±518,83 ^a	6861,30±496,80 ^b	6063,41±383,20 ^b	8174,86±349,55
Número de espermatozoides móveis/ejaculado (x10 ⁶)	9847,64±473,55 ^a	6103,71±440,78 ^b	5261,49±323,73 ^b	7289,33±318,33
Características da dose inseminante (pré-resfriamento)				
Volume de sêmen/dose inseminante (mL)	2,20±0,10 ^c	5,39±0,38 ^b	7,75±0,37 ^a	4,85±0,28
Volume de diluidor/dose inseminante (mL)	17,80±0,10 ^a	14,61±0,38 ^b	12,25±0,37 ^c	15,15±0,28
Taxa de diluição (sêmen:diluidor)/dose inseminante	8,80±0,41 ^a	3,40±0,32 ^b	1,75±0,13 ^c	4,98±0,36
Número de espermatozoides/mL de sêmen diluído (D1) (x10 ⁶)	22,24±0,05 ^b	22,55±0,18 ^{ab}	22,92±0,22 ^a	22,54±0,09
Número de espermatozoides/mL de sêmen diluído (D2) (x10 ⁶)	22,23±0,05 ^b	22,52±0,17 ^a	23,01±0,23 ^a	22,53±0,09
Intervalo de tempo da coleta à diluição do sêmen (minutos)	18,25±0,58	17,91±0,96	17,70±0,70	17,98±0,43
Motilidade após a diluição (D1)	89,75±0,17 ^a	88,71±0,65 ^a	86,83±0,74 ^b	88,56±0,33
Vigor após a diluição (D1)	4,88±0,03 ^b	4,98±0,02 ^a	4,85±0,04 ^b	4,90±0,02
Motilidade após a diluição (D2)	89,75±0,17 ^a	88,82±0,60 ^a	86,73±0,83 ^b	88,65±0,32
Vigor após a diluição (D2)	4,94±0,03 ^b	5,00±0,00 ^a	4,90±0,04 ^b	4,95±0,02
Variáveis de tempo da coleta à abertura do contêiner				
Intervalo de tempo da coleta ao início do resfriamento do sêmen (minutos)	26,23±0,85 ^a	22,80±1,19 ^b	22,67±1,01 ^b	24,07±0,60
Intervalo de tempo da diluição ao início do resfriamento do sêmen (minutos)	7,73±0,57 ^a	4,89±0,46 ^b	4,97±0,52 ^b	5,99±0,33
Intervalo de tempo da coleta à abertura do contêiner (horas)	14,62±0,17	14,49±0,19	14,45±0,21	14,53±0,11
Intervalo de tempo do início do resfriamento à abertura do contêiner (horas)	14,19±0,17	14,11±0,19	14,07±0,22	14,13±0,11
Características da dose inseminante (pós-resfriamento)				
Número de espermatozoides/dose inseminante (D1) (x10 ⁶)	400,20±0,32	400,02±0,06	397,22±1,97	399,24±0,62
Número de espermatozoides/dose inseminante (D2) (x10 ⁶)	400,12±0,31	400,01±0,06	398,28±1,76	399,61±0,47
Motilidade espermática pré-IA (D1)	79,10±0,66	79,67±1,12	73,17±3,08	77,47±1,06
Vigor espermático pré-IA (D1)	3,29±0,09 ^c	4,83±0,06 ^a	4,37±0,10 ^b	4,09±0,08
Número de espermatozoides móveis/dose inseminante pré-IA (D1) (x10 ⁶)	351,74±3,21	358,62±4,04	332,63±14,50	348,16±4,75
Motilidade espermática pré-IA (D2)	78,75±0,85	79,09±1,28	72,60±3,33	77,30±1,04
Vigor espermático pré-IA (D2)	3,60±0,08 ^c	4,89±0,04 ^a	4,40±0,11 ^b	4,24±0,07
Número de espermatozoides móveis/dose inseminante pré-IA (D2) (x10 ⁶)	350,20±3,94	355,20±4,40	332,41±15,09	347,35±4,46
Desempenho reprodutivo dos jumentos				
Número potencial de éguas inseminadas/ejaculado	24,13±1,18 ^a	14,80±1,11 ^b	12,77±0,81 ^b	17,77±0,79
Número real de éguas inseminadas/ejaculado	3,68±0,35	3,29±0,32	3,70±0,34	3,55±0,19

^{a,b,c} médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si (p<0,05)

A motilidade e o vigor foram superiores a 86,00% e 4,80, respectivamente, após a diluição do sêmen com os dois diluidores utilizados, apesar de terem diferido ($p<0,05$) entre os reprodutores. Após o resfriamento, previamente à inseminação artificial, a motilidade não diferiu ($p>0,05$) entre os três jumentos, mantendo-se acima de 70%, embora o vigor espermático tenha diferido entre os três machos ($p<0,05$); entretanto, este parâmetro manteve-se acima de 3 (escala de 0-5), valor considerado aceitável para o sêmen resfriado de equídeos. Neste sentido, Ferreira (1993) e Santos (1994) observaram diferenças ($p<0,05$) entre jumentos e entre ejaculados de um mesmo animal para as variáveis motilidade total, motilidade progressiva e vigor espermático durante o armazenamento do sêmen resfriado a 5°C.

Os intervalos de tempo da coleta e diluição ao início do resfriamento do sêmen foram maiores ($p<0,05$) para o jumento 1, em relação aos outros dois reprodutores. Há que se considerar o envasamento de um maior número de doses deste jumento, em virtude de ter sido o mesmo utilizado, também, para a inseminação de jumentas da propriedade.

4.1.2. Efeitos do diluidor e do jumento sobre a fertilidade de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído e resfriado a 5°C

As taxas de gestação, ao primeiro ciclo, bem como as taxas de gestação por ciclo ao final de quatro ciclos, foram similares ($p>0,05$) entre os diluidores e reprodutores utilizados, sem que houvesse interação jumento vs diluidor (Tabela 4.2).

Tabela 4.2: Taxa de gestação por ciclo estral de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C, considerando-se o efeito do diluidor e do jumento.

Ciclo	Diluidor 1						Diluidor 2						Total	
	Jumento						Jumento							
	1		2		3		1		2		3			
	Nº de ciclos ¹	Taxa ² gest.	Nº de ciclos	Taxa gest.	Nº de ciclos	Taxa gest.	Nº de ciclos	Taxa gest.	Nº de ciclos	Taxa gest.	Nº de ciclos	Taxa gest.	Nº de ciclos	Taxa gest.
1	22(17)	77,27	19(16)	84,21	20(10)	50,00	23(13)	56,52	21(12)	57,14	17(9)	52,94	122(77)	63,11
2	3(2)	66,67	2(1)	50,00	7(3)	42,86	7(2)	28,57	7(5)	71,43	5(3)	60,00	31(16)	51,61
3	1(0)	0,00	1(1)	100,00	4(3)	75,00	4(2)	50,00	2(1)	50,00	1(0)	0,00	13(7)	53,85
4	1(1)	100,00	-	-	1(1)	100,00	2(2)	100,00	-	-	1(1)	100,00	5(5)	100,00
Total	27(20)	74,07	22(18)	81,82	32(17)	53,13	36(19)	52,78	30(18)	60,00	24(13)	54,17	171(105)	61,40

1- Os números entre parênteses referem-se aos ciclos gestantes

2- Valores em %

As variáveis de controle, assim como as de resultado estão apresentadas na tabela 4.3. Observou-se uma homogeneidade entre os tratamentos, não havendo diferenças ($p>0,05$) entre os mesmos, quanto ao número de ciclos por égua e idade das éguas. Quanto aos intervalos avaliados (tempo coleta-diluição, coleta-resfriamento, coleta-abertura do contêiner, resfriamento-IA e

coleta-IA), observou-se diferença ($p<0,05$), apenas, no que se refere ao tempo coleta-resfriamento, em virtude de ter sido envasado um maior número de doses, por coleta, para o reprodutor 1. Como já dito anteriormente, este reprodutor era, também, utilizado para a inseminação das jumentas da propriedade.

Tabela 4.3: Variáveis de controle e de eficiência reprodutiva de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C, considerando-se o efeito do diluidor e do jumento.

Variável	Diluidor 1			Diluidor 2			Total
	Jumento			Jumento			
	1	2	3	1	2	3	
Número de éguas	22	19	20	23	21	17	122
Número de ciclos	27	22	32	36	30	24	171
Número de ciclos/égua	1,23±0,15	1,16±0,12	1,60±0,21	1,57±0,21	1,43±0,15	1,41±0,19	1,40±0,07
Idade das éguas (anos)	9,50±0,80	10,00±0,99	8,41±0,82	9,13±0,69	9,32±0,81	8,96±0,87	9,17±0,33
Volume de sêmen/dose inseminante (mL)	2,17±0,09 ^c	5,37±0,33 ^b	7,32±0,29 ^a	2,28±0,08 ^c	5,39±0,31 ^b	7,24±0,28 ^a	4,72±0,15
Volume de diluidor/dose inseminante (mL)	17,83±0,09 ^a	14,63±0,33 ^b	12,68±0,29 ^c	17,72±0,08 ^a	14,61±0,31 ^b	12,76±0,28 ^c	15,28±0,15
Concentração espermática à IA (x10 ⁶ spztz/dose)	344,96±3,95	358,10±3,47	338,76±10,43	349,91±3,52	353,09±3,79	343,97±7,38	347,92±2,43
Motilidade espermática à IA (0-100%)	77,65±0,81 ^{bc}	79,62±1,01 ^a	73,77±2,28 ^c	78,85±0,77 ^{ab}	78,56±1,10 ^{abc}	75,22±1,57 ^c	77,32±0,55
Vigor espermático à IA (0-5)	3,13±0,08 ^d	4,85±0,06 ^a	4,25±0,08 ^b	3,57±0,06 ^c	4,87±0,04 ^a	4,43±0,06 ^b	4,11±0,04
Tempo coleta-diluição (min)	19,24±0,55	19,21±1,03	18,15±0,46	18,30±0,38	18,48±0,77	17,84±0,51	18,50±0,24
Tempo coleta-resfriamento (min)	28,59±0,64 ^a	25,21±1,15 ^{bc}	24,11±0,71 ^c	26,65±0,57 ^b	23,90±0,96 ^c	23,38±0,78 ^c	25,43±0,33
Tempo coleta-abertura contêiner (horas)	14,53±0,12	14,26±0,18	14,25±0,17	14,50±0,11	14,45±0,17	14,10±0,16	14,37±0,06
Tempo resfriamento-IA (horas)	14,28±0,14	13,98±0,18	14,00±0,17	14,33±0,12	14,18±0,17	13,87±0,17	14,13±0,06
Tempo coleta-IA (horas)	14,76±0,14	14,40±0,17	14,40±0,16	14,77±0,12	14,59±0,17	14,26±0,16	14,56±0,06
Número de IA/ciclo	1,89±0,11	1,77±0,13	1,66±0,11	2,06±0,13	1,73±0,13	1,88±0,13	1,84±0,05
Número de IA/ciclo positivo	1,90±0,12	1,83±0,15	1,76±0,16	2,11±0,17	1,83±0,17	2,00±0,20	1,90±0,06
Número de IA/ciclo negativo	1,86±0,26	1,50±0,29	1,53±0,13	2,00±0,21	1,58±0,19	1,73±0,14	1,73±0,08
Número de ciclos/gestação	1,35	1,22	1,88	1,89	1,67	1,85	1,63
Taxa de gestação/ciclo (%)	74,07(20/27)	81,82(18/22)	53,13(17/32)	52,78(19/36)	60,00(18/30)	54,17(13/24)	61,40(105/171)
Número de ciclos/égua gestante	1,25±0,16	1,17±0,12	1,71±0,24	1,63±0,24	1,39±0,14	1,46±0,24	1,43±0,08
Taxa de gestação total (%)	90,91(20/22)	94,74(18/19)	85,00(17/20)	82,61(19/23)	85,71(18/21)	76,47(13/17)	86,07(105/122)
Eficiência de prenhez (0-10)	7,04±0,85 ^{ab}	7,91±0,84 ^a	4,56±0,81 ^c	4,61±0,78 ^c	5,53±0,86 ^{bc}	4,92±0,98 ^{bc}	5,61±0,36

^{a,b,c,d} médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si (p<0,05)

Quanto às variáveis de resultado, apresentadas na tabela 4.3 (número de

IA/ciclo positivo, número de IA/ciclo negativo, número de ciclos/gestação,

taxa de gestação /ciclo, número de ciclos/égua gestante e taxa de gestação total), não observou-se diferenças ($p>0,05$) entre os tratamentos. No entanto, para a variável eficiência de prenhez, os tratamentos diferiram ($p<0,05$) entre si, observando-se superioridade do jumento 2 (diluidor 1) em relação a todos os tratamentos, com exceção do jumento 1 (diluidor 1), cujos resultados se equivaleram ($p>0,05$). Os jumentos 1 e 2 apresentaram eficiências de prenhez superiores quando da utilização do diluidor 1, em relação ao diluidor 2. O jumento 3, por sua vez, apresentou uma eficiência de prenhez inferior ($p<0,05$) à dos demais reprodutores para o diluidor 1; entretanto, quando da utilização do diluidor 2, não diferiu ($p>0,05$) dos outros dois reprodutores, o que demonstra a existência de interação entre jumento e diluidor para esta

variável, ou seja, para a eficiência de prenhez. Como as demais variáveis reprodutivas avaliadas não diferiram entre os tratamentos ($p>0,05$), realizou-se análises dos dados agrupados por jumento, independentemente de diluidor (tabelas 4.7 e 4.8) e por diluidor, independentemente de jumento (tabelas 4.4 e 4.6).

4.1.3. Efeito de dois diluidores à base de leite desnatado UHT – gema de ovo com duas concentrações de glicose, independentemente do reprodutor, sobre a fertilidade de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído e resfriado a 5°C.

Observa-se na tabela 4.4 que as taxas de gestação, ao primeiro ciclo, bem como as taxas de gestação por ciclo, ao final de quatro ciclos, não diferiram ($p>0,05$) entre os dois diluidores utilizados.

Tabela 4.4.: Taxa de gestação por ciclo estral de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C, considerando-se o efeito do diluidor, independentemente do jumento.

Ciclo	Diluidor				Total	
	1		2			
	Nº de ciclos ¹	Taxa ² gest.	Nº de ciclos	Taxa gest.	Nº de ciclos	Taxa gest.
1	61(43)	70,49	61(34)	55,74	122(77)	63,11
2	12(6)	50,00	19(10)	52,63	31(16)	51,61
3	6(4)	66,67	7(3)	42,86	13(7)	53,85
4	2(2)	100,00	3(3)	100,00	5(5)	100,00
Total	81(55)	67,90	90(50)	55,56	171(105)	61,40

1- Os números entre parênteses referem-se aos ciclos gestantes

2- Valores em %

As taxas de gestação total apresentadas na tabela 4.5, não diferiram ($p>0,05$) entre os diluidores, sendo de 90,16% para o D1 e 81,97% para o D2; desta maneira, observa-se que das 122 éguas inseminadas, 105 se tornaram gestantes até o final da estação reprodutiva, estando todas as imagens ultrassonográficas apresentadas na figura 7C.

As variáveis de controle apresentadas na tabela 4.6 e capazes de interferir na

fertilidade de éguas inseminadas, não diferiram ($p>0,05$) entre os diluidores, caracterizando uma homogeneidade adequada entre os tratamentos. Com exceção da variável eficiência de prenhez ($p=0,0515$), as demais variáveis reprodutivas, a saber: número de IA/ciclo positivo, número de IA/ciclo negativo, número de ciclos/gestação, taxa de gestação/ciclo, número de ciclos/égua gestante e taxa de gestação total não sofreram influência do diluidor utilizado. Observou-se superioridade

($p=0,0515$) do diluidor 1 em relação ao diluidor 2, quanto à eficiência de prenhez.

Tabela 4.5: Taxa de gestação total por ciclo estral de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C, considerando-se o efeito do diluidor, independentemente do jumento.

Ciclo	Diluidor				Total	
	1		2			
	Nº de éguas ¹	Taxa ² gest.	Nº de éguas	Taxa gest.	Nº de éguas	Taxa gest.
1	49(43)	87,76	42(34)	80,95	91(77)	84,62
2	6(6)	100,00	12(10)	83,33	18(16)	88,89
3	4(4)	100,00	4(3)	75,00	8(7)	87,50
4	2(2)	100,00	3(3)	100,00	5(5)	100,00
Total	61(55)	90,16	61(50)	81,97	122(105)	86,07

1- Os números entre parênteses referem-se às éguas gestantes

2- Valores em %

As taxas de gestação por ciclo obtidas no presente experimento estão de acordo com as encontradas na literatura, no que diz respeito à utilização do sêmen resfriado de asininos, que tem variado de 41,16% (Carvalho, 2011) até 80,00% (Ferreira, 1993). Dentre elas, destacam-se as taxas concepção por ciclo obtidas por Rossi (2008), utilizando dose inseminante de 400×10^6 de espermatozoides asininos, resfriados a 5°C, por até 12 horas, para a inseminação de éguas, devido ao grande número de fêmeas inseminadas. Naquele experimento, obtiveram-se taxas de 52,69% (49/93) para o sêmen diluído em diluidor de leite em pó desnatado – glicose e de 47,06% (48/102), para o diluidor glicina – 20% de gema de ovo, resultados inferiores aos obtidos, no presente experimento com ambos os diluidores. Um diluidor à base de leite UHT desnatado foi utilizado para a diluição do sêmen de asininos e posterior resfriamento a 4°C, por até 8 horas (Vidament et al., 2009), quando obteve-se uma taxa de concepção por ciclo de 45%; no

entanto, utilizou-se uma dose inseminante contendo 200×10^6 espermatozoides, inferior à utilizada no presente experimento, de 400×10^6 espermatozoides/dose.

Ao utilizar uma dose inseminante de 250×10^6 espermatozoides com motilidade progressiva, no momento da inseminação, dose inferior aos 400 milhões de células utilizadas no presente experimento, Ferreira (1993) obteve taxas de concepção por ciclo de 80,00 e 75,90% para éguas inseminadas com sêmen asinino diluído em diluidor de lactose – gema de ovo e resfriado por 24 ou 48 horas, respectivamente. Já Carvalho (2011), ao utilizar apenas a fração rica em espermatozoides do ejaculado de asininos, diluído em diluidor de leite em pó desnatado – glicose e resfriado por até 24 horas, não observou diferenças entre as taxas de concepção por ciclo obtidas quando da utilização de doses inseminantes contendo 400 ou 800 milhões de espermatozoides, que foram de 41,46 e 47,37%, respectivamente.

Tabela 4.6.: Variáveis de controle e de eficiência reprodutiva de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C, considerando-se o efeito do diluidor, independentemente do jumento.

Variável	Diluidor		Total
	1	2	
Número de éguas	61	61	122
Número de ciclos	81	90	171
Número de ciclos/égua	1,33±0,10	1,48±0,11	1,40±0,07
Idade das éguas (anos)	9,20±0,50	9,14±0,45	9,17±0,33
Volume de sêmen/dose inseminante (mL)	4,95±0,23	4,53±0,20	4,72±0,15
Volume de diluidor/dose inseminante (mL)	15,05±0,23	15,47±0,20	15,28±0,15
Concentração espermática à IA ($\times 10^6$ spztz/dose)	346,25±4,25	349,31±2,72	347,92±2,43
Motilidade espermática à IA (0-100%)	76,75±0,95	77,81±0,64	77,32±0,55
Vigor espermático à IA (0-5)	4,01±0,07	4,19±0,05	4,11±0,04
Tempo coleta-diluição (min)	18,83±0,38	18,23±0,32	18,50±0,24
Tempo coleta-resfriamento (min)	26,01±0,49	24,95±0,45	25,43±0,33
Tempo coleta-abertura do contêiner (horas)	14,35±0,09	14,38±0,08	14,37±0,06
Tempo resfriamento-IA (horas)	14,09±0,09	14,16±0,09	14,13±0,06
Tempo coleta-IA (horas)	14,53±0,09	14,58±0,08	14,56±0,06
Número de IA/ciclo	1,77±0,07	1,90±0,08	1,84±0,05
Número de IA/ciclo positivo	1,84±0,08	1,98±0,10	1,90±0,06
Número de IA/ciclo negativo	1,62±0,11	1,80±0,11	1,73±0,08
Número de ciclos/gestação	1,47	1,80	1,63
Taxa de gestação/ciclo (%)	67,90(55/81)	55,56(50/90)	61,40(105/171)
Número de ciclos/égua gestante	1,36±0,10	1,50±0,12	1,43±0,08
Taxa de gestação total(%)	90,16(55/61)	81,97(50/61)	86,07(105/122)
*Eficiência de prenhez (0-10)	6,30±0,50 ^a	5,00±0,49 ^b	5,61±0,36

*a,b médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si (p = 0,0515)

Em um estudo conduzido por Boeta e Quintero (2000), utilizando doses inseminantes contendo 400 milhões de espermatozoides asininos resfriados a 5°C por até 48 horas, obtiveram-se taxas de concepção, ao primeiro ciclo, de 76,5% (13/17) para o sêmen diluído em diluidor de leite desnatado UHT e de 54,5% (6/11) para o diluído em diluidor de leite em pó desnatado – glicose. Os resultados obtidos por estes autores foram similares aos do presente experimento, considerando-se as taxas de gestação, ao primeiro ciclo, que foram de 70,49% (43/61) para o D1 e de 55,74% (34/61) para o D2. Taxa de concepção, ao primeiro ciclo, de 57% (8/14), foi obtida por Palhares et al. (1986) quando da inseminação de jumentas com sêmen asinino fresco diluído em diluidor contendo lactose e 20% de gema de ovo. Neste sentido, Silva (1988), utilizando este mesmo diluidor, obteve taxas de concepção, ao primeiro ciclo, de 52,4, 52,2 e 68,5%

para éguas inseminadas com sêmen fresco diluído de jumentos durante três estações reprodutivas consecutivas. Os resultados obtidos por Palhares et al. (1986) e por Silva (1988), nas duas primeiras estações reprodutivas, foram similares aos obtidos no presente experimento, quando da utilização do D2, sendo os resultados obtidos com o D1 similares aos da terceira estação reprodutiva do experimento conduzido por Silva (1988).

Segundo Boeta e Quintero (2000), a utilização do leite UHT é vantajosa por ter este sofrido, previamente, um processamento de ultrapasteurização, durante o qual a enzima lactenina, tóxica aos espermatozoides, é inativada, eliminando, assim, a necessidade de aquecimento do leite a 92–95°C, por 10 minutos, o que consome tempo e constitui uma possível fonte de erro (Pickett, 1993). O processamento térmico do leite somente afeta as

frações que contém proteínas solúveis, desta maneira, o leite UHT preserva o fosfocaseinato e a β -lactoglobulina, componentes responsáveis por conferir proteção às células espermáticas (Batellier et al., 1997). Neste sentido, Boeta e Quintero (2000) utilizaram o leite desnatado UHT para a diluição e posterior resfriamento do sêmen asinino a 5°C por até 48 horas, quando obtiveram taxas de concepção, ao primeiro ciclo, de 76,5% para o sêmen diluído no diluidor contendo leite UHT e de 54,5% para o diluído em diluidor de leite em pó desnatado – glicose. Também Vidament et al. (2009), ao utilizarem o leite UHT como diluidor para o sêmen de asininos resfriado a 4°C por até oito horas, obtiveram taxa de concepção de 45% para éguas e jumentas inseminadas, tendo sido, os dois últimos experimentos, já mencionados anteriormente. Quando utilizou-se o sêmen fresco diluído em leite UHT para a inseminação de jumentas, obteve-se uma taxa de concepção de 86% (6/7), que foi de 78% (7/9) quando o sêmen foi centrifugado e resfriado a 4°C para uso imediato (Vidament et al., 2009).

Alguns estudos foram conduzidos utilizando-se diluidores contendo 20% de gema de ovo para a diluição do sêmen de asininos, obtendo-se taxas de concepção aceitáveis, ao primeiro ciclo, ou por ciclo (Palhares et al., 1986; Silva, 1988; Ferreira, 1993; Rossi, 2008), sendo que, nestes estudos, utilizou-se o ejaculado total para o processamento. No entanto, Carvalho (2011) obteve taxa de concepção por ciclo de 4,76% quando da inseminação de éguas utilizando a fração rica em espermatozoides asininos, obtida pela coleta fracionada do sêmen, diluídos em diluidor contendo 20% de gema de ovo (lactose – gema de ovo), resultado inferior ao obtido, no mesmo experimento, quando utilizou-se o

diluidor de leite em pó desnatado – glicose (56,52%). Jepsen (2007), ao utilizar sêmen asinino congelado, previamente centrifugado para a retirada do plasma seminal, para a inseminação de éguas, obteve taxas de concepção de 6,25% ao utilizar um diluidor contendo 20% de gema de ovo. Diante destes resultados, a autora sugeriu que a alta concentração de gema de ovo, em virtude, provavelmente, da grande quantidade de colesterol presente na mesma, exerceu uma forte inibição da capacidade fertilizante dos espermatozoides. Comprovação neste sentido foi obtida pela adição de β metil-ciclodextrina, substância capaz de sequestrar o colesterol, ao diluidor, quando verificou-se aumento significativo da taxa de concepção por ciclo, que foi de 58,3%, similar àquela obtida quando da utilização do diluidor contendo 5% de gema de ovo (46,5%). Portanto, parece haver algum tipo de interação entre a gema de ovo e a retirada do plasma seminal de asininos, permitindo que a gema exerça forte efeito contraceptivo quando da remoção do plasma seminal.

Neste contexto, Vidament et al. (2009) adicionaram ao diluidor comercial INRA82 (à base de leite UHT) baixa concentração de gema de ovo (2%), quando obtiveram taxa de concepção de 63% (5/8) ao inseminarem jumentas com sêmen previamente centrifugado para a retirada do plasma seminal e posteriormente diluído e resfriado a 4°C, para uso imediato, e de 64% (7/11) quando o sêmen foi armazenado por uma hora. No entanto, quando o sêmen foi destinado ao congelamento, as taxas de concepção obtidas não foram satisfatórias (0 a 13%), independentemente do crioprotetor utilizado e da rediluição do sêmen em leite UHT após o descongelamento, antes das inseminações. Também visando o congelamento do sêmen

asinino, Rota et al. (2012) associaram 2% de gema de ovo ao diluidor comercial INRA96 e adicionaram, como crioprotetores, o glicerol ou o etilenoglicol. Após o descongelamento do sêmen, as amostras foram rediluídas em INRA96 ou em plasma seminal, obtendo-se taxas de concepção por ciclo de 61,54% (8/13) para o sêmen diluído em diluidor contendo glicerol e rediluído em plasma seminal; 23,08% (3/13) para o diluidor contendo glicerol e posteriormente rediluído em INRA96; 25% (2/8) para as amostras contendo etilenoglicol e rediluídas em INRA96 e de 20% (1/5) para o diluidor contendo glicerol, sem que houvesse rediluição, antes de se procederem as inseminações. Neste estudo, observou-se superioridade ($p=0,055$) para o sêmen diluído em diluidor contendo glicerol, com rediluição em plasma seminal após o descongelamento.

A célula espermática conta, principalmente, com substratos extracelulares para suprir seus requerimentos energéticos, energia esta oriunda de carboidratos como a glicose e a frutose. Entretanto, a célula espermática não é capaz de metabolizar todos os açúcares ou carboidratos mais complexos (Mann, 1964). Mann et al. (1963) observaram que os espermatozoides dos asininos são mais eficientes do que os dos equinos, quanto ao metabolismo aeróbico. Assim, quando da adição de frutose ao diluidor, observou-se uma motilidade de 60% após oito dias de armazenamento a 5°C.

Assim, no presente experimento, optou-se pela associação do leite UHT desnatado, em virtude da sua praticidade e composição, a baixas concentrações de gema de ovo (2,5%) e a um carboidrato de fácil metabolização pelos espermatozoides dos equídeos, a glicose, que foi adicionada nas concentrações de um (D1) ou dois (D2) gramas para cada 100 mL de diluidor.

Desta maneira, quando utilizou-se o diluidor contendo um grama de glicose (D1), obteve-se taxa de gestação por ciclo de 67,90%, resultado superior aos obtidos por Rossi (2008) e Carvalho (2011), quando da utilização de diluidores contendo 20% de gema de ovo ou do diluidor de leite em pó desnatado – glicose (4,9 gramas/100 mL de diluidor). Entretanto, não observou-se diferenças entre os diluidores, quanto às taxas de gestação por ciclo obtidas no presente experimento, que foram de 67,90% para o D1 e de 55,56% para o D2.

Ao comparar-se, no entanto, os diluidores quanto à eficiência de prenhez observou-se uma superioridade ($p=0,0515$) do diluidor 1 (6,30), em relação ao diluidor 2 (5,00). Desta maneira, como a composição dos diluidores diferiu apenas quanto à quantidade de glicose, provavelmente, a diferença observada pode ser atribuída à mesma. Apesar de não haver, na literatura, trabalhos associando as duas macromoléculas (leite e gema de ovo), ou ainda, comparando diferentes concentrações de glicose em diluidores para o resfriamento do sêmen de asininos, pode-se considerar que a fertilidade obtida no presente experimento, com ambos os diluidores, foi satisfatória. No entanto, outros experimentos tornam-se necessários visando-se confirmar as diferenças ($p=0,0515$) observadas entre os diluidores no presente experimento quanto à eficiência de prenhez e, atribuídas às diferentes concentrações de glicose utilizadas.

4.1.4. Efeito dos reprodutores, independentemente do diluidor, sobre a fertilidade de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído e resfriado a 5°C.

Na tabela 4.7, estão apresentadas as taxas de gestação, ao primeiro ciclo,

bem como as taxas de gestação por ciclo, ao final de quatro ciclos, que não diferiram ($p>0,05$) entre os três reprodutores utilizados. Assim, as diferenças observadas quanto às

características físicas do sêmen fresco, apresentadas na tabela 4.1, não influenciaram as taxas de gestação obtidas, após a inseminação das éguas.

Tabela 4.7: Taxa de gestação por ciclo estral de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C, considerando-se o efeito de três jumentos da raça Pêga, independentemente do diluidor.

Ciclo	Jumento						Total	
	1		2		3			
	Nº de ciclos ¹	Taxa ² gest.	Nº de ciclos	Taxa gest.	Nº de ciclos	Taxa gest.	Nº de ciclos	Taxa gest.
1	45(30)	66,67	40(28)	70,00	37(19)	51,53	122(77)	63,11
2	10(4)	40,00	9(6)	66,67	12(6)	50,00	31(16)	51,61
3	5(2)	40,00	3(2)	66,67	5(3)	60,00	13(7)	53,85
4	3(3)	100,00	-	-	2(2)	100,00	5(5)	100,00
Total	63(39)	61,90	52(36)	69,23	56(30)	53,57	171(105)	61,40

1- Os números entre parênteses referem-se aos ciclos gestantes

2- Valores em %

Observa-se na tabela 4.8, que a variável concentração espermática à inseminação artificial, que refere-se ao número de espermatozoides móveis na dose inseminante, no momento da inseminação, diferiu ($p<0,05$) entre os reprodutores, uma vez que a motilidade espermática, no momento da inseminação, diferiu ($p<0,05$) entre os mesmos. Estas diferenças, no entanto, foram mínimas e, provavelmente, apenas tornaram-se evidentes devido ao grande número de repetições. Quanto ao vigor espermático à inseminação artificial, observa-se superioridade do jumento 2 em relação aos demais; entretanto, vigor espermático excelente (acima de 4), foi observado, também, para o jumento 3. O tempo da coleta ao início do resfriamento do sêmen foi maior ($p<0,05$) para o jumento 1, em relação aos demais reprodutores, devido ao maior número de doses envasadas para este reprodutor que era utilizado, também, para a inseminação das

jumentas da propriedade, condição já mencionada anteriormente.

Para a variável de controle coleta-IA, observou-se diferenças ($p<0,05$) entre os jumentos que foram, entretanto, pequenas e casuais frente ao complexo planejamento necessário para a inseminação de várias éguas com sêmen de diferentes reprodutores. As demais variáveis de controle, tais como número de ciclos por égua, idade das éguas, tempo coleta-diluição, tempo coleta-abertura do contêiner e tempo resfriamento-IA não diferiram ($p>0,05$) entre os machos utilizados. Os volumes de sêmen e de diluidor por dose inseminante diferiram ($p<0,05$) entre os reprodutores devido às diferentes concentrações espermáticas dos ejaculados, refletindo no volume de sêmen a ser utilizado para produzir doses inseminantes com uma concentração fixa de 400×10^6 espermatozoides por dose.

Tabela 4.8: Variáveis de controle e de eficiência reprodutiva de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C, considerando-se o efeito de três jumentos da raça Pêga, independentemente do diluidor.

Variável	Jumento			Total
	1	2	3	
Número de éguas	45	40	37	122
Número de ciclos	63	52	56	171
Número de ciclos/égua	1,40±0,13	1,30±0,10	1,51±0,14	1,40±0,07
Idade das éguas (anos)	9,29±0,52	9,61±0,62	8,64±0,59	9,17±0,33
Volume de sêmen/dose inseminante (mL)	2,23±0,06 ^c	5,38±0,23 ^b	7,28±0,20 ^a	4,72±0,15
Volume de diluidor/dose inseminante (mL)	17,77±0,06 ^a	14,62±0,23 ^b	12,72±0,20 ^c	15,28±0,15
Concentração espermática à IA (x10 ⁶ spz/dose)	347,89±2,63 ^b	355,24±2,62 ^a	341,15±6,55 ^a	347,92±2,43
Motilidade espermática à IA (0-100%)	78,36±0,56 ^{ab}	79,01±0,76 ^a	74,44±1,42 ^b	77,32±0,55
Vigor espermático à IA (0-5)	3,39±0,05 ^c	4,86±0,03 ^a	4,34±0,05 ^b	4,11±0,04
Tempo coleta-diluição (min)	18,68±0,32	18,79±0,62	18,01±0,34	18,50±0,24
Tempo coleta-resfriamento (min)	27,44±0,43 ^a	24,46±0,74 ^b	23,78±0,52 ^b	25,43±0,33
Tempo coleta-abertura contêiner (horas)	14,51±0,08	14,37±0,12	14,18±0,12	14,37±0,06
Tempo resfriamento-IA (horas)	14,31±0,09	14,09±0,12	13,94±0,12	14,13±0,06
Tempo coleta-IA (horas)	14,76±0,09 ^a	14,51±0,12 ^a	14,34±0,11 ^b	14,56±0,06
Número de IA/ciclo	1,98±0,09	1,75±0,09	1,75±0,08	1,84±0,05
Número de IA/ciclo positivo	2,00±0,10	1,83±0,11	1,87±0,12	1,90±0,06
Número de IA/ciclo negativo	1,96±0,16	1,56±0,16	1,62±0,10	1,73±0,08
Número de ciclos/gestação	1,62	1,44	1,87	1,63
Taxa de gestação/ciclo (%)	61,90(39/63)	69,23(36/52)	53,57(30/56)	61,40(105/171)
Número de ciclos/égua gestante	1,44±0,15	1,28±0,09	1,60±0,17	1,43±0,08
Taxa de gestação total(%)	86,67(39/45)	90,00(36/40)	81,08(30/37)	86,07(105/122)
Eficiência de prenhez (0-10)	5,65±0,59	6,54±0,62	4,71±0,62	5,61±0,36

^{a,b,c} médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si (p<0,05)

Um dos principais fatores capazes de afetar a longevidade do sêmen equino durante o armazenamento e transporte é o próprio reprodutor, que pode ser classificado como bom ou ruim quanto à sensibilidade do sêmen ao processo de resfriamento (Brinsko et al., 2000), que não é dependente apenas da qualidade do sêmen fresco mas, principalmente, da composição do plasma seminal e da membrana plasmática (Aurich, 2005).

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. Entretanto, Amann (2005) ao examinar 67 trabalhos publicados no ano de 2003 envolvendo dados de fertilidade, principalmente da

espécie equina, detectou falhas em 76% (51/67) destes, devido a uma ou mais razões. Dentre elas, vale salientar o reduzido número de machos utilizados (inferior a três); a seleção de machos superiores quanto aos parâmetros reprodutivos; o pequeno número de fêmeas utilizadas por tratamento; e, finalmente, a demonstração dos resultados através da taxa de concepção total ao final da estação reprodutiva, o que pode aproximar dois machos com potencial de fertilidade bastante diferente.

Ferreira (1993) comparou as características físicas do ejaculado de três jumentos, observando, diferenças entre eles, com superioridade de um em relação aos demais, frente ao resfriamento. As taxas de concepção

obtidas neste experimento foram de 80% para o sêmen resfriado por até 24 horas e de 75,9% quando o sêmen foi resfriado por 48 horas, resultados estes superiores aos observados no presente experimento. Entretanto, Ferreira (1993) utilizou apenas o sêmen do melhor jumento para a inseminação das éguas.

No presente experimento, as variáveis de resultado avaliadas (número de IA/ciclo positivo, número de IA/ciclo negativo, número de ciclos/gestação, taxa de gestação/ciclo, número de ciclos/égua gestante, taxa de gestação total e eficiência de prenhez) não diferiram ($p>0,05$) entre os reprodutores, o que demonstra potencial reprodutivo similar entre os três jumentos utilizados. Da mesma maneira, Carvalho (2011), ao realizar a coleta dos três primeiros jatos do ejaculado de cinco jumentos da raça Pêga, observou diferenças significativas entre os machos quanto às características físicas do sêmen, como motilidade espermática do sêmen *in natura* e após a diluição, vigor espermático do sêmen *in natura*, concentração de espermatozoides totais e móveis por mL e número de espermatozoides totais e móveis por ejaculado, sem, no entanto, influenciar as taxas de concepção de éguas inseminadas, que não diferiram ($p>0,05$) entre os reprodutores. Segundo a autora, entretanto, diferenças entre as taxas de concepção podem não ter sido observadas devido ao pequeno número de ciclos utilizados por jumento, diferentemente do observado no presente experimento, quando foram utilizados 63 ciclos para o jumento 1, 52 ciclos para o jumento 2 e 56 para o jumento 3.

Ao trabalhar com jumentos da raça Pêga, no Brasil, Rossi (2008) observou variação individual entre jumentos quanto ao volume de sêmen,

concentração espermática por mL, concentração de espermatozoides móveis por mL, número total de espermatozoides por ejaculado e número total de espermatozoides móveis por ejaculado para o sêmen fresco diluído. Quando as coletas foram destinadas ao resfriamento, houve diferença, ainda, na motilidade espermática do sêmen *in natura* e após diluição e resfriamento. Neste experimento, observou-se, ainda, que a fertilidade diferiu entre os jumentos quando da utilização do sêmen fresco diluído, com taxas de concepção por ciclo variando de 36,36% a 76,92%, sendo esta diferença acentuada quando as éguas foram inseminadas com sêmen diluído e resfriado a 5°C por até 12 horas. Neste experimento, utilizou-se 77 ciclos para inseminação de éguas com sêmen fresco diluído e 195 quando o sêmen foi resfriado.

Por outro lado, o tempo de armazenamento do sêmen no presente experimento, que foi de $14,56\pm0,06$ horas, pode não ter sido suficiente para causar diferenças quanto ao potencial reprodutivo dos três jumentos utilizados, uma vez que a motilidade espermática pré inseminação, que foi acima de 70% para todos os machos, pode ser considerada ótima para o sêmen resfriado de equídeos.

4.2. Efeito da idade das fêmeas equinas, da categoria reprodutiva, do intervalo IA/ovulação e do número de inseminações artificiais sobre a fertilidade de fêmeas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C.

4.2.1. Efeito da idade sobre a fertilidade de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas

concentrações de glicose e resfriado a 5°C.

Observa-se, na tabela 4.9, o agrupamento dos ciclos por idade, não havendo diferenças ($p>0,05$) na fertilidade quanto à taxa de gestação, ao

primeiro ciclo, nem quanto à taxa de gestação por ciclo, ao final de quatro ciclos. Da mesma maneira, observa-se na tabela 4.10, que a taxa de gestação total, ao final da estação reprodutiva, não diferiu ($p>0,05$) entre as diferentes faixas etárias avaliadas.

Tabela 4.9.: Taxa de gestação por ciclo estral de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C, considerando-se o efeito da idade das fêmeas.

Ciclo	Idade das éguas								Total	
	2,5 – 5 anos		6 – 10 anos		11 a 14 anos		≥ 15 anos			
	Nº de ciclos ¹	Taxa ² gest.	Nº de ciclos	Taxa gest.	Nº de ciclos	Taxa gest.	Nº de ciclos	Taxa gest.	Nº de ciclos	Taxa gest.
1	28(15)	53,57	43(30)	69,77	32(19)	59,38	19(13)	68,42	122(77)	63,11
2	9(6)	66,67	9(5)	55,56	9(3)	33,33	4(2)	50,00	31(16)	51,61
3	2(1)	50,00	4(3)	75,00	6(2)	33,33	1(1)	100,00	13(7)	53,85
4	1(1)	100,00	1(1)	100,00	3(3)	100,00	-	-	5(5)	100,00
Total	40(23)	57,50	57(39)	68,42	50(27)	54,00	24(16)	66,67	171(105)	61,40

1- Os números entre parênteses referem-se aos ciclos gestantes

2- Valores em %

Tabela 4.10.: Taxa de gestação total por ciclo estral de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C, considerando-se o efeito da idade das fêmeas.

Ciclo	Idade das éguas								Total	
	2,5 – 5 anos		6 – 10 anos		11 a 14 anos		≥ 15 anos			
	Nº de éguas ¹	Taxa ² gest.	Nº de éguas	Taxa gest.	Nº de éguas	Taxa gest.	Nº de éguas	Taxa gest.	Nº de éguas	Taxa gest.
1	19(15)	78,95	34(30)	88,24	23(19)	82,61	15(13)	86,67	91(77)	84,62
2	7(6)	85,71	5(5)	100,00	3(3)	100,00	3(2)	66,67	18(16)	88,89
3	1(1)	100,00	3(3)	100,00	3(2)	66,67	1(1)	100,00	8(7)	87,50
4	1(1)	100,00	1(1)	100,00	3(3)	100,00	-	-	5(5)	100,00
Total	28(23)	82,14	43(39)	90,70	32(27)	84,38	19(16)	84,21	122(105)	86,07

1- Os números entre parênteses referem-se às éguas gestantes

2- Valores em %

Na tabela 4.11, estão apresentadas as variáveis de controle e de resultado. Quanto às variáveis de controle, observa-se que o tempo coleta-diluição e coleta-resfriamento apresentaram diferenças ($p<0,05$) casuais e irrelevantes entre os grupos. As demais variáveis de controle, com exceção da idade das éguas, não diferiram ($p>0,05$) entre as faixas etárias. As variáveis de resultado número de IA/ciclo positivo, número de IA/ciclo negativo, número de ciclos/gestação, taxa de gestação/ciclo, número de ciclos/égua gestante, taxa de gestação total e eficiência de prenhez, não diferiram ($p>0,05$) entre os grupos.

Os resultados do presente experimento contrastam com vários autores, que tem atribuído os piores resultados de fertilidade às éguas mais velhas (Carnevale e Ginther, 1992; Brinsko et al., 1994; Carnevale e Ginther, 1994; Valle, 1997; Morris et al., 2002; Allen et al., 2006).

A síndrome do envelhecimento na égua pode incluir fatores endócrinos (Carnevale et al., 1993; 1994), desarranjo das estruturas do oócito (Hunter, 1990; Hambags et al., 2006), alterações dos ambientes tubárico (Brinsko et al., 1994; Brinsko et al.,

1996) e uterino (Carnevale e Ginther, 1992; LeBlanc, 2003) e alterações de conformação vulvar (Greenhoff e Kenney, 1975; Pascoe, 1979), que estão diretamente associados à redução da eficiência reprodutiva. Assim,

Carnevale e Ginther (1992) obtiveram menor taxa de concepção, em éguas pônei, em um grupo de fêmeas com idade superior a 15 anos, quando comparado ao grupo com idade entre cinco e sete anos.

Tabela 4.11: Variáveis de controle e de eficiência reprodutiva de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C, considerando-se o efeito da idade das fêmeas.

Variável	Idade das fêmeas				Total
	2,5 – 5 anos	6 – 10 anos	11 a 14 anos	≥ 15 anos	
Número de éguas	28	43	32	19	122
Número de ciclos	40	57	50	24	171
Número de ciclos/égua	1,43±0,14	1,33±0,11	1,56±0,18	1,26±0,13	1,40±0,07
Idade das éguas (anos)	3,53±0,13 ^d	7,53±0,19 ^c	12,44±0,15 ^b	15,69±0,21 ^a	9,17±0,33
Volume de sêmen/dose inseminante (mL)	5,09±0,32	4,74±0,26	4,26±0,26	5,20±0,49	4,72±0,15
Volume de diluidor/dose inseminante (mL)	14,91±0,32	15,26±0,26	15,74±0,26	14,80±0,49	15,28±0,15
Concentração espermática à IA (x10 ⁶ spztz/dose)	339,47±5,89	349,32±4,36	353,73±2,62	344,67±9,48	347,92±2,43
Motilidade espermática à IA (0-100%)	75,42±1,31	77,48±0,98	78,86±0,62	76,45±2,22	77,32±0,55
Vigor espermático à IA (0-5)	4,08±0,09	4,17±0,08	4,02±0,08	4,24±0,12	4,11±0,04
Tempo coleta-diluição (min)	18,46±0,55 ^b	17,96±0,39 ^b	18,31±0,38 ^b	20,58±0,86 ^a	18,50±0,24
Tempo coleta-resfriamento (min)	25,86±0,73 ^{ab}	24,81±0,56 ^b	24,82±0,55 ^b	27,95±1,02 ^a	25,43±0,33
Tempo coleta-abertura contêiner (horas)	14,38±0,13	14,31±0,11	14,52±0,10	14,08±0,18	14,37±0,06
Tempo resfriamento-IA (horas)	14,13±0,13	14,08±0,11	14,31±0,10	13,80±0,18	14,13±0,06
Tempo coleta-IA (horas)	14,56±0,13	14,49±0,11	14,72±0,10	14,29±0,18	14,56±0,06
Número de IA/ciclo	1,80±0,09	1,81±0,08	2,02±0,10	1,58±0,13	1,84±0,05
Número de IA/ciclo positivo	1,87±0,11	1,87±0,11	2,11±0,13	1,69±0,18	1,90±0,06
Número de IA/ciclo negativo	1,71±0,14	1,67±0,14	1,91±0,17	1,38±0,18	1,73±0,08
Número de ciclos/gestação	1,74	1,46	1,85	1,50	1,63
Taxa de gestação/ciclo (%)	57,50(23/40)	68,42(39/57)	54,00(27/50)	66,67(16/24)	61,40(105/171)
Número de ciclos/égua gestante	1,48±0,16	1,36±0,19	1,59±0,20	1,25±0,14	1,43±0,08
Taxa de gestação total (%)	82,14(23/28)	90,70(39/43)	84,38(27/32)	84,21(16/19)	86,07(105/122)
Eficiência de prenhez (0-10)	5,20±0,74	6,35±0,60	4,76±0,66	6,33±0,95	5,61±0,36

^{a,b,c,d} médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si (p<0,05)

Também Valle (1997) utilizando sêmen equino diluído e resfriado, obteve taxa de concepção, no grupo de éguas com idade entre 15 e 19 anos, de 29,41%, diferindo dos demais grupos que foi de 62,07% para éguas entre três e seis anos, 63,64% entre sete e dez anos e 52,50% para as fêmeas com idade entre 11 e 14 anos. Salienta-se, no entanto, que no experimento conduzido por Valle (1997), o diagnóstico de gestação

foi realizado através da taxa de não retorno ao cio e palpação transretal, sem o auxílio da ultrassonografia; desta maneira, éguas que apresentaram perda gestacional precoce podem não ter sido diagnosticadas como gestantes. No presente experimento, a utilização da ultrassonografia permitiu o diagnóstico de gestação a partir do 11º dia após a detecção da ovulação.

Já Brandão (2001) não observou diferenças quanto à fertilidade de éguas inseminadas com sêmen equino diluído, entre as diferentes faixas etárias avaliadas (4-6, 7-10, 11-14 e 15-16 anos). Da mesma maneira, Rossi (2008), ao trabalhar com 195 ciclos, não observou diferenças entre as taxas de concepção ao primeiro ciclo ou por ciclo de fêmeas equinas inseminadas com sêmen asinino diluído e resfriado entre diferentes faixas etárias estudadas, a saber: de 2,5 a 6 anos, 6,5 a 10 anos, 10,5 a 14 anos e 14,5 a 19 anos, assim como o observado no presente experimento.

Segundo LeBlanc (2003), éguas mais velhas e que tenham passado por várias gestações podem apresentar atraso na limpeza uterina, resultando em endometrite persistente induzida pela cobertura. Diversos fatores podem estar ligados ao desenvolvimento desta patologia como aumento do ângulo com inclinação cranial da vulva; relaxamento dos ligamentos largos resultando em deslocamento ventral do útero no abdômen; comprometimento da drenagem linfática do útero e degeneração vascular do endométrio, que incluem elastose, fibrose e fibroelastose da parede dos vasos, levando à fibrose perivascular e processos de calcificação. Portanto, éguas susceptíveis à endometrite persistente induzida pela cobertura devem ser cobertas ou inseminadas apenas uma vez por ciclo estral visando à redução do acúmulo de fluido intrauterino (LeBlanc, 2003). Observou-se, no presente experimento, um número médio de inseminações por ciclo, para as éguas com idade igual ou superior a 15 anos, de $1,58 \pm 0,13$. Este reduzido número, deveu-se, provavelmente, à utilização sistemática da hCG como agente indutor da ovulação. Tal fato pode ter contribuído para a obtenção de uma taxa de gestação

por ciclo aceitável (66,67%) quando da inseminação de éguas mais velhas.

Por outro lado, os efeitos deletérios relacionados à idade da égua sobre a fertilidade devem ser atribuídos, principalmente, a defeitos intrínsecos ao oócito e ao embrião resultante, podendo, as anormalidades, exercerem maior impacto sobre estádios mais avançados da gestação (Ball, 2000), os quais não foram avaliados no presente experimento.

A fertilidade similar encontrada no presente experimento para éguas de diferentes faixas etárias pode estar relacionada, ainda, ao baixo valor comercial destas fêmeas. Conforme proposto por Rossi (2008), em se tratando de um rebanho destinado à produção de muare, com éguas de baixo valor comercial, pode ser que os descartes sejam muito mais frequentes do que nos rebanhos de elite, permanecendo na propriedade as éguas mais férteis, independentemente da idade.

4.2.2. Efeito da categoria reprodutiva sobre a fertilidade de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C.

Na tabela 4.12 observa-se o agrupamento dos ciclos por categoria reprodutiva e sua relação com a taxa de gestação. Os grupos não diferiram entre si ($p > 0,05$) quanto à taxa de gestação, ao primeiro ciclo, nem quanto à taxa de gestação/ciclo, após quatro ciclos. Observa-se, ainda, que as éguas da categoria “cio do potro” somente foram inseminadas no primeiro ciclo, já que mudaram de categoria e passaram a fazer parte do grupo de éguas paridas, no segundo ciclo após o parto.

Tabela 4.12.: Taxa de gestação por ciclo estral de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C, considerando-se o efeito da categoria reprodutiva.

Ciclo	Categoria reprodutiva								Total	
	Potra (1)		Égua Solteira (2)		Égua Parida (3)		Cio do Potro (4)			
	Nº de ciclos ¹	Taxa ² gest.	Nº de ciclos	Taxa gest.	Nº de ciclos	Taxa gest.	Nº de ciclos	Taxa gest.	Nº de ciclos	Taxa gest.
1	19(11)	57,89	58(40)	68,97	21(9)	42,86	24(17)	70,83	122(77)	63,11
2	6(3)	50,00	16(8)	50,00	9(5)	55,56	-	-	31(16)	51,61
3	2(1)	50,00	8(5)	62,50	3(1)	33,33	-	-	13(7)	53,85
4	1(1)	100,00	3(3)	100,00	1(1)	100,00	-	-	5(5)	100,00
Total	28(16)	57,14	85(56)	65,88	34(16)	47,06	24(17)	70,83	171(105)	61,40

1- Os números entre parênteses referem-se às éguas gestantes

2- Valores em %

O incremento da fertilidade, em um rebanho equino, pode ser verificado, ao longo de estações de monta consecutivas, pelo aumento da proporção de éguas com potro ao pé (lactantes) em relação à categoria de éguas solteiras (Silva, 1988). No presente trabalho, de um total de 122 fêmeas trabalhadas, observou-se a seguinte distribuição no que se refere às categorias reprodutivas: 15,57% de potras; 47,54% de éguas solteiras e 36,89% de éguas lactantes representando, as últimas, menos da metade das fêmeas utilizadas.

Quanto às variáveis de controle apresentadas na tabela 4.13, observa-se que os grupos diferiram ($p < 0,05$) quanto à sua média de idade, sendo as éguas do “cio do potro” mais velhas do que as éguas paridas, que não diferiram, no entanto, do grupo de éguas solteiras. As potras, como esperado, apresentaram idade inferior às demais categorias. As variáveis de tempo coleta-abertura do contêiner, resfriamento-IA e coleta-IA, também apresentaram diferenças estatísticas ($p < 0,05$), porém casuais e irrelevantes.

As variáveis de resultados, a saber: número de IA/ciclo positivo, número de IA/ciclo negativo, número de ciclos/gestação e taxa de gestação/ciclo não diferiram ($p > 0,05$) entre os grupos. Entretanto, a variável eficiência de

prenhez diferiu ($0 < 0,05$) entre as categorias, quando observou-se menor eficiência de prenhez no grupo de éguas paridas. Isto se deve, provavelmente, ao fato de esta categoria possuir maior exigência nutricional devido à lactação. Há que se salientar que as éguas foram mantidas a pasto, durante todo o período experimental e com suplementação insuficiente, haja visto que, das 12 éguas paridas que não se tornaram gestantes até o final da estação reprodutiva, 10 ciclaram apenas uma vez (no “cio do potro”) durante todo o período experimental.

Segundo Heidler et al (2003), mecanismos regulatórios estimulam, significativamente, a atividade ovariana das éguas durante as duas primeiras semanas após o parto, e se tornam menos pronunciados no decorrer da lactação. Estes autores observaram um aumento contínuo da concentração de IGF-1 até o parto, que se manteve em concentrações altas na fase inicial da lactação. Em outras espécies, o IGF-1 estimula a esteroidogênese ovariana, o crescimento folicular e a formação de receptores de LH. Os autores, observaram, ainda, uma redução significativa da concentração de IGF-1 no transcorrer da lactação que, associada a uma diminuição da liberação de GH, pode resultar em redução da estimulação ovariana nas

égua após o “cio do potro”. Tais observações podem responder pela maior incidência de estros prolongados

e ovulação retardada observadas nesta fase em um considerável número de éguas.

Tabela 4.13: Variáveis de controle e de eficiência reprodutiva de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C, considerando-se o efeito da categoria reprodutiva.

Variável	Categoria reprodutiva				Total
	Potra (1)	Égua Solteira (2)	Égua Parida (3)	Cio do Potro (4)	
Número de ciclos	28	85	34	24	171
Idade das éguas (anos)	3,16±0,08 ^c	10,41±0,37 ^{ab}	9,16±0,66 ^b	11,81±0,86 ^a	9,17±0,33
Volume de sêmen/dose inseminante (mL)	4,70±0,36	4,74±0,22	4,79±0,36	4,62±0,41	4,72±0,15
Volume de diluidor/dose inseminante (mL)	15,30±0,36	15,26±0,22	15,21±0,36	15,38±0,41	15,28±0,15
Concentração espermática à IA (x10 ⁶ spz/dose)	341,36±6,97	350,16±3,36	349,43±3,61	346,07±7,63	347,92±2,43
Motilidade espermática à IA (0-100%)	76,13±1,52	77,58±0,77	77,67±0,87	77,40±1,77	77,32±0,55
Vigor espermático à IA (0-5)	4,04±0,11	4,09±0,06	4,23±0,11	4,09±0,12	4,11±0,04
Tempo coleta-diluição (min)	17,81±0,60	18,76±0,34	18,03±0,60	19,00±0,60	18,50±0,24
Tempo coleta-resfriamento (min)	25,38±0,82	25,59±0,45	24,36±0,88	26,29±0,80	25,43±0,33
Tempo coleta-abertura contêiner (horas)	14,37±0,14 ^{ab}	14,27±0,09 ^b	14,77±0,13 ^a	14,18±0,17 ^b	14,37±0,06
Tempo resfriamento-IA(horas)	14,12±0,15 ^{ab}	14,04±0,09 ^b	14,52±0,14 ^a	13,97±0,17 ^b	14,13±0,06
Tempo coleta-IA (horas)	14,54±0,15 ^{ab}	14,47±0,09 ^b	14,92±0,13 ^a	14,41±0,17 ^b	14,56±0,06
Número de IA/ciclo	1,82±0,12	1,85±0,08	1,71±0,11	2,00±0,12	1,84±0,05
Número de IA/ciclo positivo	1,81±0,16	1,93±0,09	1,75±0,14	2,06±0,13	1,90±0,06
Número de IA/ciclo negativo	1,83±0,17	1,69±0,13	1,67±0,16	1,86±0,26	1,73±0,08
Número de ciclos/gestação	1,75	1,52	2,13	1,41	1,63
Taxa de gestação/ciclo (%)	57,14(16/28)	65,88(56/85)	47,06(16/34)	70,83(17/24)	61,40(105/171)
Eficiência de prenhez (0-10)	5,14±0,89 ^a	5,95±0,49 ^a	4,12±0,79 ^b	7,08±0,95 ^a	5,61±0,36

^{a,b,c} médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si (p<0,05)

Segundo Von Lepel (1975), as éguas solteiras, são consideradas fêmeas de menor fertilidade que as potras e éguas paridas. No presente experimento, porém, as éguas solteiras apresentaram taxa de gestação por ciclo de 65,88%,

não diferindo das demais categorias. Da mesma maneira, Ferreira (1993) obteve taxa de concepção de 93,7% para éguas solteiras inseminadas com sêmen asinino, não diferindo das demais categorias. Também Rossi (2008) não

observou diferenças entre as quatro categorias reprodutivas avaliadas, quanto à fertilidade de éguas inseminadas com sêmen de jumentos diluído e resfriado, apesar do grande número de fêmeas utilizadas (141 éguas). Tal fato se deve, provavelmente, à presença de éguas, nesta categoria, com problemas reprodutivos transitórios ou, ainda, de fêmeas que tenham tido manejo reprodutivo inadequado na estação reprodutiva anterior sem, no entanto, apresentar patologias do sistema reprodutivo.

Apesar da boa fertilidade relatada para as potras, a utilização de fêmeas muito novas pode resultar em altas taxas de aborto. Desta maneira, Mitchell e Allen (1975), avaliaram o desempenho reprodutivo de 137 potras entre 12 e 14 meses, durante quatro estações de monta consecutivas, cobertas pela primeira vez. Os autores obtiveram taxa de concepção de 69,34% (95/137); no entanto, 44 (46,32%) sofreram aborto. Após realização de vários exames, concluiu-se que a causa da alta incidência de abortos foi, principalmente, relacionada à imaturidade das fêmeas.

Panzani et al. (2007) compararam a taxa de recuperação embrionária de potras de um ano (12 a 16 meses) ou dois anos (24 a 28 meses) e éguas maduras (de 3 a

12 anos). Os autores observaram diferenças entre as taxas de recuperação de embriões entre os três grupos avaliados, que foi de 47,7% (21/44) para o grupo de um ano, 75% (12/16) para as fêmeas de dois anos e 84,6% (22/26) para as éguas maduras. Observou-se, no presente experimento, idade média de $3,16 \pm 0,08$ para as fêmeas enquadradas na categoria “potras”, idade esta superior à relatada para potras no experimento conduzido por Panzani et al. (2007).

4.2.3. Efeito do intervalo IA-ovulação sobre a fertilidade de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C.

Na tabela 4.14 está apresentada a distribuição dos ciclos por jumento e diluidor de acordo com o intervalo IA-ovulação. Observa-se que há um reduzido número de ciclos para o intervalo 72PP, em virtude, provavelmente, da utilização sistemática da hCG como agente indutor da ovulação. Diante disto, as éguas, ovularam, em sua maioria, dentro de até 48 horas após a aplicação da mesma, que era feita, normalmente, no dia da inseminação artificial.

Tabela 4.14: Distribuição percentual dos ciclos estrais por diluidor e jumento de acordo com o intervalo IA-ovulação das fêmeas equinas.

Intervalo IA- ovulação	DI			DII			Total
	Jumento			Jumento			
	1	2	3	1	2	3	
24P	5,26(9/171) ¹	6,43(11/171)	4,09(7/171)	6,43(11/171)	7,02(12/171)	3,05(6/171)	32,75(56/171)
48P	2,92(5/171)	4,09(7/171)	2,92(5/171)	2,34(4/171)	5,85(10/171)	2,34(4/171)	20,47(35/171)
48PP	5,85(10/171)	7,60(13/171)	4,68(8/171)	8,19(14/171)	4,09(7/171)	7,02(12/171)	37,43(64/171)
72PP	1,75(3/171)	2,92(5/171)	1,17(2/171)	0,58(1/171)	1,75(3/171)	1,17(2/171)	9,36(16/171)
Total	15,79(27/171)	21,05(36/171)	12,87(22/171)	17,54(30/171)	18,71(32/171)	14,04(24/171)	100,00(171/171)

¹. Número observado/número total

Observa-se, na tabela 4.15, que o intervalo IA-ovulação não exerceu efeito sobre a fertilidade das éguas, já que as taxas de gestação, ao primeiro

ciclo, assim como as taxas de gestação por ciclo, ao final de quatro ciclos, não diferiram ($p > 0,05$) entre os diferentes intervalos.

Tabela 4.15: Taxa de gestação por ciclo estral de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C, considerando-se o efeito do intervalo IA-ovulação.

Ciclo	Intervalo IA-ovulação								Total	
	24P		48P		48PP		72PP			
	Nº de ciclos ¹	Taxa ² gest.	Nº de ciclos	Taxa gest.	Nº de ciclos	Taxa gest.	Nº de ciclos	Taxa gest.	Nº de ciclos	Taxa gest.
1	44(29)	65,91	22(12)	54,55	48(32)	66,67	8(4)	50,00	122(77)	63,11
2	7(3)	42,86	7(4)	57,14	12(7)	58,33	5(2)	40,00	31(16)	51,61
3	2(0)	0,00	5(2)	40,00	3(3)	100,00	3(2)	66,67	13(7)	53,85
4	3(3)	100,00	1(1)	100,00	1(1)	100,00	-	-	5(5)	100,00
Total	56(35)	62,50	35(19)	54,29	64(43)	67,19	16(8)	50,00	171(105)	61,40

1- Os números entre parênteses referem-se às éguas gestantes

2- Valores em %

As variáveis de controle, apresentadas na tabela 4.16, tempo da coleta à abertura do contêiner, resfriamento-IA e coleta-IA diferiram ($p < 0,05$) entre os intervalos, sendo maiores para os intervalos com inseminação pós-ovulação (72PP e 48PP) que para 24P e 48P. No entanto, estas variações foram casuais e podem estar relacionadas ao maior número de inseminações por ciclo ($p < 0,05$) observadas para os intervalos 48PP e 72PP. Não houve diferenças ($p > 0,05$) quanto às demais variáveis de controle, com exceção do vigor espermático, quando observou-se inferioridade ($p = 0,0570$) no intervalo 72PP, em relação ao 48PP.

Quanto às variáveis reprodutivas apresentadas na tabela 4.16, não observou-se diferenças ($p > 0,05$) quanto ao número de ciclos/gestação, taxa de gestação/ciclo e eficiência de prenhez. Já as variáveis número de IA/ciclo, número de IA/ciclo positivo e número de IA/ciclo negativo foram superiores ($p < 0,05$) para os intervalos 48PP e 72PP. Tal fato pode ser atribuído a uma maior frequência de inseminações realizadas nos grupos de éguas submetidas a inseminações pré e pós-ovulação (48PP e 72PP).

O intervalo da monta natural ou da inseminação artificial à ovulação é de grande importância ao estudar-se parâmetros de fertilidade. Quando a

inseminação é realizada previamente à ovulação, a fertilização dependerá da viabilidade espermática no sistema genital da fêmea, que pode ser de 24 a 48 horas para o sêmen equino resfriado (Silva Filho et al., 1998; Squires et al., 1998; Sieme et al., 2003), sendo este período dependente do reprodutor utilizado, bem como do tipo de processamento ao qual o sêmen é submetido. Por outro lado, quando a inseminação é realizada após a ovulação, dependerá da viabilidade do oócito (Silva Filho et al., 1998), podendo esta variar de 8 a 10 horas (Chang, 1951; Hunter, 1990), embora tenha sido demonstrado sua viabilidade por até 12 horas após a ovulação (Dantas, 1995).

Ao utilizarem sêmen equino resfriado a 5°C, Squires et al. (1998) relataram taxas de concepção por ciclo de 64% para éguas inseminadas 0,9 dias antes da ovulação, diferindo daquelas obtidas quando da inseminação de éguas 2 dias antes da ovulação, com doses inseminantes contendo 1 ou 2 x 10⁹ espermatozoides, que foram de 31 e 41%, respectivamente. Desta maneira, os autores concluíram que quanto mais próximo da ovulação ocorrer a última inseminação, maior será a taxa de concepção, devido à menor longevidade do sêmen resfriado no sistema genital das éguas, em relação à do sêmen fresco.

Tabela 4.16: Variáveis de controle e de eficiência reprodutiva de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C, considerando-se o efeito do intervalo IA-ovulação.

Variável	Intervalo IA-ovulação				Total
	24P	48P	48PP	72PP	
Número de ciclos	56	35	64	16	171
Idade das éguas (anos)	9,21±0,57	9,81±0,80	8,93±0,53	8,59±1,09	9,17±0,33
Volume de sêmen/dose inseminante (mL)	4,67±0,28	4,86±0,50	4,87±0,22	4,15±0,44	4,72±0,15
Volume de diluidor/dose inseminante (mL)	15,33±0,28	15,14±0,50	15,13±0,22	15,85±0,44	15,28±0,15
Concentração espermática à IA (x10 ⁶ sptz/dose)	344,16±5,30	352,60±6,05	351,71±3,04	338,61±7,37	347,92±2,43
Motilidade espermática à IA (0-100%)	76,73±1,22	77,82±1,36	78,04±0,69	75,68±1,71	77,32±0,55
*Vigor espermático à IA (0-5)	4,10±0,08 ^{ab}	4,05±0,13 ^{ab}	4,21±0,06 ^a	3,80±0,15 ^b	4,11±0,04
Tempo coleta-diluição (min)	18,35±0,44	18,97±0,76	18,67±0,35	17,78±0,74	18,50±0,24
Tempo coleta-resfriamento (min)	25,04±0,56	26,85±0,99	25,14±0,50	26,08±0,98	25,43±0,33
Tempo coleta-abertura contêiner (horas)	14,17±0,11 ^b	14,04±0,14 ^b	14,52±0,09 ^a	14,65±0,16 ^a	14,37±0,06
Tempo resfriamento-IA (horas)	13,92±0,11 ^b	13,86±0,16 ^b	14,28±0,10 ^a	14,40±0,16 ^a	14,13±0,06
Tempo coleta-IA (horas)	14,34±0,11 ^b	14,30±0,16 ^b	14,70±0,10 ^a	14,83±0,16 ^a	14,56±0,06
Número de IA/ciclo	1,75±0,08 ^b	1,11±0,07 ^c	2,19±0,05 ^a	2,31±0,18 ^a	1,84±0,05
Número de IA/ciclo positivo	1,83±0,10 ^b	1,16±0,12 ^c	2,23±0,07 ^a	2,25±0,25 ^{ab}	1,90±0,06
Número de IA/ciclo negativo	1,62±0,13 ^b	1,06±0,06 ^c	2,10±0,10 ^a	2,38±0,26 ^a	1,73±0,08
Número de ciclos/gestação	1,60	1,84	1,49	2,00	1,63
Taxa de gestação/ciclo (%)	62,50(35/56)	54,29(19/35)	67,19(43/64)	50,00(8/16)	61,40(105/171)
Eficiência de prenhez (0-10)	5,82±0,64	4,80±0,79	6,22±0,57	4,25±1,14	5,61±0,36

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

*p = 0,0570

Em um experimento conduzido por Ferreira (1993), utilizou-se sêmen asinino resfriado, quando obteve-se taxas de concepção de 61,8% para as éguas inseminadas 24 a 48 horas antes da ovulação, de 88,9% para as inseminadas até 24 horas antes da ovulação e de 85,7% para as inseminadas até 12 horas após a ovulação, sem que houvesse diferenças entre os dois últimos intervalos que, no entanto, diferiram das inseminações realizadas de 24 a 48 horas antes da ovulação. O efeito do intervalo inseminação-ovulação foi mais

marcante quando associado ao número de inseminações artificiais por ciclo. Assim, quando realizou-se apenas uma inseminação, as taxas de concepção obtidas foram de 85% e 53,6% para as éguas inseminadas até 24 horas antes da ovulação ou entre 24 e 48 horas, respectivamente. Por outro lado, Leite (1994) também utilizando sêmen asinino, porém fresco diluído, não observou diferenças quanto à fertilidade de éguas inseminadas até 24 horas ou entre 24 e 48 horas antes da ovulação. Desta maneira, pode haver uma menor viabilidade do sêmen asinino resfriado

no sistema genital de éguas quando comparada à do sêmen fresco, assim como nos equinos, conforme proposto por Squires et al. (1998).

Diferentes estudos foram realizados com os mesmos intervalos do presente experimento, utilizando sêmen equino (Palhares, 1997; Silva Filho et al., 1998; Brandão 2001; Xavier, 2006). Em nenhum deles observou-se influência do intervalo IA-ovulação sobre a fertilidade de éguas inseminadas. Assim, estes autores propuseram uma viabilidade de 60 horas para os gametas masculinos no trato reprodutivo da fêmea, considerando-se o intervalo de 72 horas (72PP), menos a viabilidade do oócito, de 12 horas. Desta maneira, tornou-se possível a realização de inseminações três vezes por semana, em dias fixos, sem prejuízo da fertilidade das éguas, indicando que as condições de diluição e/ou resfriamento e de transporte do sêmen foram adequadas (Palhares, 1997; Silva Filho et al., 1998; Brandão, 2001). Resultados similares foram obtidos por Rossi (2008), quando utilizou-se a mesma metodologia proposta para a inseminação de éguas com sêmen resfriado de jumentos. A autora não observou diferenças quanto à fertilidade das éguas inseminadas em relação aos diferentes intervalos inseminação-ovulação. Associando-se os resultados de Rossi (2008) aos do presente experimento, observa-se que a viabilidade espermática proposta pelos autores citados anteriormente, possa, também, ser verdadeira para o sêmen de

jumentos resfriado a 5°C por até 14 horas.

4.2.4. Efeito do número de inseminações artificiais realizadas por ciclo sobre a fertilidade de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C.

Está apresentada na tabela 4.17, a distribuição dos ciclos por jumento e diluidor de acordo com o número de inseminações artificiais realizadas por ciclo. Observou-se que foram realizadas três inseminações ou mais em um reduzido número de ciclos, em virtude, provavelmente, da utilização da hCG como agente indutor da ovulação. Desta maneira, as éguas ovularam, em sua maioria, dentro de até 48 horas após a aplicação da mesma, que era feita, normalmente, no dia da inseminação artificial, como já citado anteriormente.

Observou-se que as taxas de gestação, ao primeiro ciclo, bem como as taxas de gestação por ciclo, ao final de quatro ciclos, apresentadas na tabela 4.18, foram similares ($p>0,05$) para as éguas inseminadas uma, duas e três ou mais vezes por ciclo. As demais variáveis reprodutivas avaliadas: número de ciclos/gestação e eficiência de prenhez, também não diferiram ($p>0,05$) entre si quanto ao número de inseminações artificiais realizadas por ciclo, conforme a tabela 4.19.

Tabela 4.17: Distribuição percentual dos ciclos estrais por diluidor e jumento de acordo com o número de inseminações artificiais realizadas por ciclo das fêmeas equinas.

Nº IA/ciclo	DI			DII			Total
	Jumento			Jumento			
	1	2	3	1	2	3	
1 IA	3,51(6/171) ¹	4,68(8/171)	4,09(7/171)	7,02(12/171)	7,60(13/171)	3,51(6/171)	30,41(52/171)
2 IA	10,53(18/171)	11,70(20/171)	7,60(13/171)	8,19(14/171)	9,94(17/171)	8,77(15/171)	56,73(97/171)
≥3 IA	1,75(3/171)	4,68(8/171)	1,17(2/171)	2,34(4/171)	1,17(2/171)	1,75(3/171)	12,87(22/171)
Total	15,79(27/171)	21,05(36/171)	12,87(22/171)	17,54(30/171)	18,71(32/171)	14,04(24/171)	100,00(171/171)

¹ Número observado/número total

Tabela 4.18: Taxa de gestação por ciclo estral de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C, considerando-se o efeito do número de inseminações artificiais realizadas por ciclo.

5 C, considerando-se o critério do número de insinuações arquivadas realizadas por ciclo.								
Ciclo	Número de IA/ciclo						Total	
	1 IA		2 IA		≥3 IA			
	Nº de ciclos ¹	Taxa ² gest.	Nº de ciclos	Taxa gest.	Nº de ciclos	Taxa gest.	Nº de ciclos	Taxa gest.
1	34(18)	52,94	76(51)	67,11	12(8)	66,67	122(77)	63,11
2	13(7)	53,85	16(8)	50,00	2(1)	50,00	31(16)	51,61
3	5(2)	40,00	4(2)	50,00	4(3)	75,00	13(7)	53,85
4	-	-	1(1)	100,00	4(4)	100,00	5(5)	100,00
Total	52(27)	51,92	97(62)	63,92	22(16)	72,73	171(105)	61,40

1- Os números entre parênteses referem-se às éguas gestantes

2- Valores em %

As variáveis de controle apresentadas na tabela 4.19, tempo coleta-abertura do contêiner, tempo resfriamento-IA e tempo coleta-IA, diferiram ($p<0,05$) entre os diferentes números de IA/ciclo;

entretanto, estas diferenças foram casuais e irrelevantes. As demais variáveis de controle não diferiram ($p>0,05$) entre os grupos.

Tabela 4.19: Variáveis de controle e de eficiência reprodutiva de fêmeas equinas inseminadas com sêmen diluído em dois diluidores à base de leite UHT desnatado – gema de ovo com duas concentrações de glicose e resfriado a 5°C, considerando-se o efeito do número de inseminações artificiais realizadas por ciclo.

Variável	Número de IA/ciclo			Total
	1 IA	2 IA	≥3 IA	
Número de ciclos	52	97	22	171
Idade das éguas (anos)	9,53±0,64	8,82±0,44	9,89±0,84	9,17±0,33
Volume de sêmen/dose inseminante (mL)	4,97±0,42	4,89±0,20	4,06±0,28	4,72±0,15
Volume de diluidor/dose inseminante (mL)	15,03±0,42	15,11±0,20	15,94±0,28	15,28±0,15
Concentração espermática à IA ($\times 10^6$ spz/dose)	341,85±8,77	346,27±3,04	357,24±2,21	347,92±2,43
Motilidade espermática à IA (0-100%)	75,38±2,00	77,01±0,69	79,71±0,49	77,32±0,55
Vigor espermático à IA (0-5)	4,12±0,11	4,12±0,06	4,07±0,09	4,11±0,04
Tempo coleta-diluição (min)	19,42±0,68	18,44±0,30	17,99±0,50	18,50±0,24
Tempo coleta-resfriamento (min)	27,02±0,82	25,27±0,40	24,68±0,77	25,43±0,33
Tempo coleta-abertura contêiner (horas)	13,88±0,12 ^b	14,40±0,08 ^a	14,64±0,12 ^a	14,37±0,06
Tempo resfriamento-IA (horas)	13,65±0,12 ^b	14,16±0,08 ^a	14,41±0,12 ^a	14,13±0,06
Tempo coleta-IA (horas)	14,10±0,12 ^b	14,59±0,08 ^a	14,81±0,12 ^a	14,56±0,06
Número de ciclos/gestação	1,93	1,56	1,38	1,63
Taxa de gestação/ciclo (%)	51,92(27/52)	63,92(62/97)	72,73(16/22)	61,40(105/171)
Eficiência de prenhez (0-10)	4,77±0,65	6,08±0,48	5,55±0,88	5,61±0,36

^{a,b} Médias seguidas por letras diferentes, na mesma linha, diferem entre si ($P<0,05$).

Na espécie equina, a fase folicular do ciclo estral é muito variável e inconsistente, o que torna difícil a predição do momento da ovulação e a

determinação do final do estro (Ginther et al., 1972). Portanto, em muitos sistemas de manejo onde se utiliza a inseminação artificial, as fêmeas são

inseminadas em dias alternados à partir do segundo ou terceiro dia do estro até o seu término ou detecção da ovulação (Brinsko e Varner, 1993). Entretanto, um melhor controle reprodutivo, através de palpações transretais, associadas ou não à ultrassonografia, pode ser realizado visando à predição do momento da ovulação e consequente redução do número de inseminações artificiais realizadas por ciclo. Ao reduzir-se o número de inseminações, pode haver aumento da fertilidade resultante da redução dos riscos de contaminação iatrogênica do sistema reprodutivo, especialmente em éguas susceptíveis a endometrites (Brinsko e Varner, 1993). Segundo LeBlanc (2003) éguas susceptíveis a endometrites devem ser cobertas ou inseminadas apenas uma vez por ciclo visando-se reduzir o acúmulo de fluido intrauterino.

Os agentes farmacológicos indutores da ovulação constituem uma ferramenta importante na predição da ovulação, visto que uma grande parte das éguas ovula em até 48 horas após sua administração. No presente experimento, observa-se que, na maior parte dos ciclos, ou seja em 87,13% (149/171), as éguas foram inseminadas no máximo duas vezes, o que se deve, provavelmente, à utilização de agentes indutores da ovulação; entretanto, não observou-se diferenças ($p < 0,05$) quanto à fertilidade de éguas inseminadas uma, duas ou três vezes no mesmo ciclo.

Em um estudo conduzido por Ferreira (1993) observou-se aumento da taxa de concepção quando aumentou-se o número de inseminações de uma para duas ou mais vezes, associado à redução do intervalo inseminação-ovulação de 24-48 horas para até 24 horas antes da ovulação. Desta maneira, o efeito do intervalo inseminação ovulação foi mais marcante na presença de apenas uma inseminação, quando obteve-se taxas de

concepção de 85% e 53,6%, respectivamente, para as éguas inseminadas até 24 horas antes da ovulação ou entre 24 e 48 horas. Quando foram realizadas duas inseminações por ciclo, não observou-se efeito do intervalo inseminação-ovulação sobre a taxa de concepção das éguas, que foi de 93,75% para as fêmeas inseminadas até 24 horas antes da ovulação e de 100% para aquelas inseminadas entre 24 e 48 antes da ovulação.

Trabalhando com sêmen equino resfriado a 5°C, Palhares (1997) e Valle (1997) não observaram diferenças quanto à taxa de concepção de éguas inseminadas por uma, duas, três e quatro ou mais vezes por ciclo. Utilizando sêmen asinino diluído e resfriado a 5°C, Rossi (2008) também não observou efeito do número de inseminações sobre a fertilidade de éguas inseminadas. As taxas de concepção por ciclo, obtidas neste estudo, foram de 50,00%, 62,07% e 41,03% para éguas inseminadas uma, duas e três vezes ou mais por ciclo, respectivamente. Também Leite (1994), ao utilizar o sêmen fresco diluído de jumentos para a inseminação de éguas, não observou efeito do número de inseminações por ciclo sobre a fertilidade. O resultado do presente experimento está de acordo com aquele obtido pelos autores citados acima, que não observaram diferenças em relação à fertilidade de éguas inseminadas com sêmen equino ou asinino, quanto ao número de inseminações artificiais realizadas por ciclo.

5. CONCLUSÕES

Os diluidores propostos no presente experimento foram igualmente eficazes quanto à manutenção das características físicas do sêmen asinino diluído, resfriado a 5°C e armazenado por até $14,56 \pm 0,06$ horas após a coleta,

independentemente do reprodutor utilizado. A capacidade fecundante dos espermatozoides asininos foi mantida durante o período de resfriamento, independentemente do jumento e do diluidor utilizado, resultando em uma fertilidade comercialmente aceitável. No entanto, o diluidor contendo um grama de glicose respondeu pela maior eficiência de prenhez; desta maneira, outros estudos tornam-se necessários visando-se confirmar estas diferenças, atribuídas às diferentes concentrações de glicose utilizadas.

A idade das éguas não influenciou as taxas de gestação, sendo observada excelente fertilidade até mesmo para as éguas mais velhas. O mesmo foi observado para as diferentes categorias reprodutivas; entretanto, observou-se menor eficiência de prenhez para as éguas paridas, que pode estar relacionada à maior exigência

nutricional desta categoria. O manejo reprodutivo adotado neste experimento, com a realização de inseminações às segundas, quartas e sextas feiras, não causou prejuízos à fertilidade das éguas inseminadas. Também o número de inseminações artificiais realizadas por ciclo não exerceu influência sobre a fertilidade das éguas, porém, devido à utilização do agente indutor da ovulação, na maior parte dos ciclos, foram realizadas, no máximo, duas inseminações.

Finalmente, em virtude dos resultados obtidos, da praticidade e do baixo custo dos diluidores propostos neste trabalho, pretende-se que estes, associados ao manejo reprodutivo empregado, com inseminações três vezes por semana, possam ser utilizados, rotineiramente, em programas de inseminação visando à produção de muare, respeitando-se a individualidade dos reprodutores.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AITKEN, R.J.; BAKER, M.A. Oxidative stress and male reproductive biology. *Reprod. fert. dev.*, n.16, p.581–588, 2004.
- AITKEN, J.; FISHER, H. Reactive oxygen species generation and human spermatozoa: the balance of benefit and risk. *Bioessays*, v.16, p.259–67, 1994.
- 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.; WILSHER, S.; MORRIS, L. *et al.* Re-establishment of oviducal patency and fertility in infertile mares. *Anim. reprod sci.*, v. 94, p. 242-243, 2006.
- ALVAREZ, J.G.; STOREY, B.T. Taurine, hypotaurine and albumin inhibit lipid peroxidation in rabbit spermatozoa and protect against loss of motility. *Biol. reprod.*, v.29, p.548-555, 1983.
- 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.; 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.
- 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. (Eds.) *Equine reproduction*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. p. 715-745.
- AMANN, R.P. Weaknesses in reports of “fertility” for horses and other species. *Theriogenology*, n. 63, p.698–715, 2005.
- 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.
- AURICH, C. Factors affecting the plasma membrane function of cooled-stored stallion spermatozoa. *Anim. reprod. Sci.*, v. 89, p. 65-75, 2005.
- AURICH, C. Recent advances in cooled-semen technology. *Anim. Reprod. Sci.*, v.107, n.3-4, p.268–275, 2008.
- AURICH, C. Seminal extenders for cooled semen (Europe). In: MCKINNON, A.O.; SQUIRES, E.L.; VAALA, W.E. *et al* (Eds). *Equine reproduction*. Philadelphia: Lea & Febiger, 2011. p. 1336-1340.
- 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.
- 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*. International Veterinary Information Service. 2000. Disponível em: <www.ivia.org>. Acesso em: 12 de agosto de 2012.
- BALL, B. A.; MEDINA, V.; GRAVANCE, C. G. *et al.* Effect of antioxidants on preservation of motility, viability and acrossomal integrity of equine spermatozoa during storage at 5°C. *Theriogenology*, v. 56, n.4, p. 577-589, 2001.
- 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.; 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.
- 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.; MAGISTRINI, M.; FAUQUANT, J. *et al.* Effect of milk fractions on survival of equine spermatozoa. *Theriogenology*, v.48, n.3, p.391–417, 1997.
- BELL, R.J.; BRISTOL, F. Fertility and pregnancy loss after delay of foal oestrus with progesterone and oestradiol-17 β . *J. reprod. fertil.*, suppl. 35, p. 667–668, 1987
- BERGERON, A.; BRINDLE, Y.; BLONDIN, P. *et al.* Milk caseins decrease the binding of the major bovine seminal plasma proteins to sperm and prevent lipid loss from the sperm membrane during sperm storage. *Biol. reprod.*, v.77, p.120-126, 2007.
- BERLINER, V.R. Dilutors for stallions and jack semen. *J. anim. sci.*, v.1, n.4, p.314-319, 1942.
- BIELANSKI, W. The evaluation of stallion semen in aspects of fertility control and its use for artificial insemination. *J reprod fertil*, n.23, p.19-23, 1975.
- 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. mex.*, v.31, n.1, p.67-69, 2000.
- BOWEN, J.M.; TOBIN, N.; SIMPSON, R.B. *et al.* Effects os washing on the bacterial flora of the stallion's penis. *J repord fert*, v.32, p.41-45, 1982.
- 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.
- 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.; IGNOTZ, G. G.; BALL, B. A. *et al.* Characterization of polypeptides synthesized and secreted by oviductal epithelial cell explants obtained from young, fertile and aged, subfertile mares. *Am. J. Vet. Res.*, v. 57, p. 1346-1353, 1996.
- BRINSKO, S.P.; VARNER, D.D. Artificial insemination and preservation of semen. *Vet clin north am equine pract*, n.8, p. 205-218, 1992.
- BRINSKO, S.P.; VARNER, D.D. Artificial insemination. In: MCKINNO, A.O.; VOSS, J.L. (Eds). *Equine reproduction*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. p.790-796.
- 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.; VARNER, D.D. Artificial insemination. In: MCKINNO, A.O.; VOSS, J.L. (Eds). *Equine reproduction*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. p.790-796.
- BURNS, S.J.; SIMPSON, R.B.; SNELL, J.R. Control of microflora in stallion semen with a semen extender. *J. reprod. fertil.*, suppl. 23, p. 139–142, 1975.
- BWANGA, C.O. Cryopreservation of boar semen I: a literature review. *Acta Vet Scand*, v.32, p.431–453, 1991.
- 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.

- 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, Viçosa, MG.
- CARNEVALE, E.M.; BERGFELT, D.R.; GINTHER, O.J. Follicular activity and concentrations of FSH and LH associated with senescence in mares. *Anim. reprod. sci.*, v.35, p. 231-246, 1994.
- CARNEVALE, E. M.; GINTHER, O. J. Relationship of age to uterine function and reproductive efficiency in mares. *Theriogenology*, v. 37, p. 1101-1115, 1992.
- CARNEVALE, E. M.; GINTHER, O. J. Reproductive function in old mares. In: AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, ANNUAL CONVENTION, 37., 1991, Vancouver. *Proceedings...* Vancouver: American Association of Equine Practitioners, 1994. p. 15.
- 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.
- CARVALHO, L.E. *Fertilidade de éguas inseminadas com sêmen fracionado de jumentos da raça Pêga, diluído, resfriado e estocado a 5°C em contêiner especial*. 2011. 193f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.
- 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.
- CHANG, M.C. Fertilization capacity of spermatozoa deposited in the fallopian tubes. *Nature*, v. 168, n. 4277, p. 997-998, 1951.
- COCCHIA, N.; PASOLINIA, M.P.; MANCINIB, R. *et al.* Effect of sod (superoxide dismutase) protein supplementation in semen extenders on motility, viability, acrosome status and ERK (extracellular signal-regulated kinase) protein phosphorylation of chilled stallion spermatozoa. *Theriogenology*, v.75, p.1201-1210, 2011.
- COTTORELLO, A.C.P.; AMANCIO, R.C.; HENRY, M. *et al.* Effect of storage temperature and extenders on —in vitrol activity of donkey spermatozoa. *Theriogenology*, v.58, n.2-4, p. 325-328, 2002.
- CROSS, N. Role of cholesterol in sperm capacitation. *Biol reprod*, v.59, p.7-11, 1998
- CROSS, N.L. Effect of methyl-B-Cyclodextrin on the acrossomal responsiveness of human sperm. *Mol. reprod. dev.*, v.53, p.92-98, 1999.
- CUEVA, F.I.C.; PUJOL, M.R.; RIGAU, T. *et al.* Resistance to osmotic stress of horse spermatozoa: the role of ionic pumps and their relationship to cryopreservation success. *Theriogenology*, v.48, p.947-968, 1997.
- 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.
- 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 LEEUW, F.E.; DE LEEUW, A.M.; DEN DAAS, J.H.G. *et al.* Effects of various cryoprotective agents and membrane-stabilizing compounds on bull

sperm membrane integrity after cooling and freezing. *Cryobiology*, v.30, p.32-44, 1993.

DÍAZ, N.; DUVERGER, O.; DENIS, R. *et al.* Resultados preliminares sobre fertilidad en yeguas inseminadas con semen fresco de burros para la obtención de mulos (*Equus mulus*). *Cien. tecnol. ganadera*, v.3, n.2, p.65-67, 2009.

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.

DUOOS, L.; TROEDSSON, M.H.T.; ALGHAMDI, A.S. *et al.* The importance of osmotic pressure for the quality of fresh, cooled and cryopreserved equine spermatozoa. *Theriogenology*, v.58, p.261-264, 2002.

EL WISHY, A.B. Morphology of epididymal spermatozoa in the ass (*Equus asinus*) and stallion (*Equus caballus*). *Zeitschrift-fur-Tierzuchtung-und-Zuchtungsbiologie*, v.92, n.1-2, p.67-72, 1975.

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.

FLESCH, F.M.; GADELLA, B.M. Dynamics of the mammalian sperm plasma membrane in the process of fertilization. *Biochim. biophys. acta. – rev. biomem.*, v.1469, n.3, p.197-235, 2000.

FLIPSE, R.J.; PATTON, S.; ALMQUIST, J.O. Diluters for bovine semen. III. Effect of lactenin and of lactoperoxidase upon spermatozoan livability. *J dairy sci*, v.37, p.1205-1211, 1954.

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.

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.

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.

GARCIA, M.A.; GRAHAM, E.F. Dialysis of bovine semen and its effect on fresh and freeze-thawed spermatozoa. *Cryobiology*, v.24, p.446-454, 1987.

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.

GONZALEZ, N.; PEDROSO, R.; CABRERA, L. Osmotic pressure in a stallion semen diluent based on glucose, lactose, raffinose and milk. *Anim breed abstr*, n. 47, p. 437, 1979.

GRAHAM, J.K. Cryopreservation of stallion spermatozoa. *Reprod. Tech.*, v.12, p. 131-147, 1996.

GREENHOFF, G. R; KENNEY R. M. Evaluation of reproductive status of nonpregnant mares. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 167, p. 449-58, 1975.

GYGAX, A.P. GANJAM, V.K.; KENNEY, R.M. Clinical, microbiological and histological changes associated with uterine involution in the mare. *J. reprod. fertil.*, v.27, p.571-578, 1979.

HAAG, F.M. Evaluation of "dismount" semen in thoroughbred horse breeding. *J. am. vet. med. assoc.*, v.1, p.312-314, 1959.

HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. *Reproduction in farm animals*. Philadelphia: Lippicott Williams e Wichins. 2000. 509p.

HAMMERSTEDT, R.H.; GRAHAM, J.K. Cryopreservation of poultry sperm: The enigma of glycerol. *Cryobiology*, v.29, n.1 p.26-38, 1992.

HAMMES, A.M.; PIMENTEL, C.A.; FERNANDES, C.E. Fertilidade em garanhões avaliada através do exame

- andrológico. *Ciênc. Rural*, v.26, n.2, p. 277-283, 1996.
- HEIDLER, B.; PARVIZI, N.; SAUERWEIN, H. *et al.* Effects of lactation on metabolic and reproductive hormones in lipizzaner mares. *Domestic animal endocrinology*, v. 25, p. 47-59, 2003.
- HEISKANEN, M.L.; PIRHONEN, A.; KOSKINEN, E. *et al.* Motility and ATP content of extended equine spermatozoa in different storage condition. *J. reprod. fertil.*, suppl.35, p.103-107, 1987.
- 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.
- HIPAKKA, R.A.; HAMMERSTEDT, R.H. Z-deoxy glucose transport and phosphorylation by sperm. *Biol. reprod.*, v.19, n.2, p.368-379, 1978.
- 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.
- HUECK, C. *Untersuchungen zur Flüssigkonservierung von Pferdisperma unter Verwendung Verschiedener Kühlund Transportsysteme – Laborstudie*. 1990. 89f. Tese (Doutorado) - Tierärztlichen Hochschule Hannover, Hannover.
- HUNTER, R.H.F. Gamete lifespan in the mare's genital tract. *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.
- 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, 1992.
- 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.
- JOHNSON, L.A.; WEITZE, K.F.; FISER, P. *et al.* Storage of boar semen. *Anim Reprod Sci*, v.62, p.142-173, 2000.
- JONES, R.; MANN, T.; SHERINS, R. Reproductive breakdown of phospholipids in human spermatozoa, spermicidal properties of fatty acids peroxides and protective action of seminal plasma. *Fertil. steril.*, v.31, p.531 – 537, 1979.
- 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.
- 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, A.M.; REILAS, T.; SANKARI, S. *et al.* Composition of fractionated stallion ejaculates. *Anim. reprod. sci.*, v. 89, p. 228-230, 2005.
- KATILA, T. Procedures for handling fresh stallion sperm. *Theriogenology*, v.48, n.7, p. 1217-1227, 1997.
- 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.
- 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.
- 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.
- KODAMA, H.; KURIBAYASHI, Y.; GAGNON, C. Effect of sperm lipid

- peroxidation on fertilization. *J. androl.*, v.17, p.151–157, 1996.
- 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.
- KRAUSE, D.; GROVE, D. Deep freezing of jackass and stallion semen in concentrated pellet form. *J. reprod. fertil.*, v.14, p.139-141, 1967.
- 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.
- 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.
- LEBLANC, M. M. *Persistent mating induced endometritis in the mare: pathogenesis, diagnosis and treatment.* International Veterinary Information Service. 2003. Disponível em: <www.ivis.org>. Acesso em: 12 de agosto de 2012.
- LEBLANC, M.M.; NEUWIRTH, L.; JONES, L. *et al.* Differences in uterine position of reproductively normal mares and those with delayed uterine clearance detected by scintigraphy. *Theriogenology*, v.50, p.49-54, 1998.
- LEEB, T.; SIEME, H.; TÖPFER-PETERSEN, E. Genetic markers for stallion fertility—lessons from humans and mice. *Anim. reprod. sci.*, v. 89, p. 21-29.
- LEITE, S. V. F. *Influência do número de espermatozoides de jumento (Equus asinus) sobre a taxa de prenhe 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.
- LINFOR, J.J.; MEYERS, S.A. Detection of DNA damage in response to cooling injury in equine spermatozoa using single-cell gel electrophoresis. *J. androl.*, v.23, p.107–113, 2002.
- LOOMIS, P.R. Advanced methods for handling and preparation of stallion semen. *Vet. clin. equine.*, n. 22, p. 663–676, 2006.
- LOVE, C.C. Semen collection techniques. *Vet. clin. north. am.*, n. 8, p. 111-128, 1992.
- 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.
- LOY, R.G. Characteristics of postpartum reproduction in mares. *Vet. clin. north am.-large anim. pract.*, v.2, p. 345-349, 1980.
- MAGISTRINI, M. Semen evaluation. In: SAMPER, J.C. (Ed.). *Equine breeding management and artificial insemination.* Philadelphia: WB Saunders, 2000. p. 91-108.
- 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.
- MANN, T. Metabolism of semen: fructolysis respiration and sperm energetic. In: MANN, T. (Ed). *The Biochemistry of semen and of the male reproductive tract.* London: Methuen and Co., 1964. p. 265-307.
- 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.
- MATTHEWS, R.G.; ROPIHA, R.T. BUTTERFIELD, R.M. The phenomenon of foal heat in mares. *Aust Vet J*, v.43, p.579-582, 1967.
- MELLO, S.L.V. *Efeito da coleta fracionada de sêmen e de dois diluentes sobre a longevidade de espermatozoides de jumentos (Equus asinus) resfriados a 5°C.* 1998. 97f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de

Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, 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.

MÉNARD, M.; NAUC, V.; LAZURE, C. *et al.* Novel purification method for mammalian seminal plasma phospholipid-binding proteins reveals the presence of a novel member of this family of protein in stallion seminal fluid. *Mol reprod dev*, v. 66, p.349-357, 2003.

MENNELLA, MRF; JONES, R. Properties of spermatozoal superoxide dismutase and lack of involvement of superoxides in metal-ion-catalysed lipid-peroxidation reactions in semen. *Biochem j.*, v. 191, p. 289-297, 1980.

MERKT, H.; KLUG, E.; BOHM, K.H. *et al.* Recent observations concerning Klebsiella infections in stallions. *J. reprod. fert.*, v.23, p.143-145, 1975.

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.; 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.

MORAIS, R. N.; MUCCILOLO, 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, 1994.

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.

NEWCOMBE, J.R.; LICHTWARK, S.; WILSON, M.C. Case report: The effect of sperm number, concentration, and volume of insemination dose of chilled, stored, and transported semen on pregnancy rate in standardbred mares. *J. equine vet. sci.*, n.25, p.70-75, 2005.

NISHIKAWA, Y. *Studies on reproduction in horses*. Tokyo: Japan Racing Association, 1959. 340p.

OLIVEIRA, J.V. *Estudo de metodologias para a criopreservação de sêmen de jumento (Equus asinus) por meio de testes laboratoriais e fertilidade*. 2005. 110f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade Estadual Paulista — Julio de Mesquita Filho. Botucatu, SP.

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.

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.

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.; 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. *Proceedings...* Urbana: University of Illinois, 1984, v.3, abstr. 377.
- PANZANI, D.; ROTA, A.; PACINI, M. *et al.* One year old fillies can be successfully used as embryo donors. *Theriogenology*, v.67, p.367–371, 2007.
- PAPA, F.O.; MEIRA, C.; SIMON, J.J. *et al.* Pregnancies in maré using donkey (*Equus asinus*) frozen semen. *Arq. fac. vet. UFRGS*, v.27, n.1, p.262, 1999.
- PARKS, J.E.; GRAHAM, J.K. Effects of cryopreservation procedures on sperm membranes. *Theriogenology*, v.38, n.2, p.209-222, 1992.
- 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.
- 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.
- PETTIT, M.J.; BUHR, M.M. Extender components and surfactants affect boar sperm function and membrane behaviour during cryopreservation. *J. androl.*, v.19, p.736–746, 1998.
- PICKETT, B.W. Seminal extenders and cooled semen. In: MCKINNON, A.O.; VOSS, J.L. (Eds). *Equine reproduction*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. p. 746-754.
- PICKETT, B.W., AMANN, R.P. Extension and storage of stallion spermatozoa: A review. *Equine vet. sci.*, n. 7, p. 289-302, 1987.
- PICKETT, B.W.; FAULKNER, L.C.; SEIDEL, G.E. *et al.* Reproductive physiology of the stallion. VI. Seminal and behavioral characteristics. *J. anim. sci.*, n. 43, p. 617-625, 1976.
- 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., 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.; DEMICK, D.S. Stallion seminal extenders. *Proc. 20th an. conv. AAEP*, p. 155-174, 1974.
- 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. Amorphous water-soluble derivatives of cyclodextrins: nontoxic dissolution enhancing excipients. *J. pharm. sci.*, v.74, p.987-990.
- 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.; ARNS, M.J.; POOL, K.C. Seminal plasma influence recovery of equine spermatozoa following *in vitro* culture (37°C) and cold storage (5°C). *Theriogenology*, v.39, p.291, 1993.
- PURSEL, V.G.; SCHULMAN, L.L.; JOHNSON, L.A. Effect of Orvus ES Paste on acrosome morphology, motility and fertilizing capacity of frozen-thawed boar sperm. *J. anim. sci.*, v.47, p.198-202, 1978.
- PYCOCK, J. F. How to maximize the chances of breeding successfully from the older maiden mare. In: ANNUAL CONVENTION OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, 52., 2006, San Antonio. *Proceedings...* San Antonio, 2006. p. 245-249.
- RAMBAGS, B.P.B.; VAN BOXTEL, D.C.J.; THARASANIT, T. *et al.* Maturation *in vitro* leads to mitochondrial degeneration in oocytes recovered from aged but not young mares. *Anim. reprod. sci.*, v.94, p.359-361, 2006.
- 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. *Donkey jack (Equus asinus) semen cryopreservation: studies of seminal parameters, post breeding inflammatory response, and fertility in donkey jennies*. 2012. Tese - Facoltà di Medicina Veterinária – Università di Pisa, Itália.
- ROTA, A.; MAGELLI, C.; PANZANI, D. *et al.* Effect of extender, centrifugation and remove of seminal plasma on cooled-preserved Amiana donkey spermatozoa. *Theriogenology*, v.69, n.2, p.176-185, 2008.
- 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.; VAN DENMARK, N.L.; LODGE, J.R. Part 2: The storage and the planting. In: FREEMAN, W.H. (Eds). *Physiology of reproduction and AI of cattle*. San Francisco, 1978. p.187-578.
- 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.
- 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.
- 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, 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.
- 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.; VALLE, G. R.; SATURNINO, H. M. *et al.* Influência do intervalo entre a inseminação artificial com

- sêmen diluído resfriado e transportado e a ovulação sobre a fertilidade de éguas. *Arq. bras. med. vet. zootec.*, v. 50, p. 563-568, 1998.
- SINGER, S.J.; NICHOLSON, G.L. The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science*, v.175, p.720-731, 1972.
- 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.
- TISCHNER, M.; KOSINIAK, K.; BIELÁNSKI, 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.
- 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.
- 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.; TAINTURIER, D. A procedure for poitou jackass sperm cryopreservation. *Theriogenology*, v. 50, n.5, p.793- 806, 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. *Cad. téc. vet. zootec.*, n.36, p.45-53, 2002.
- VARNER, D.D. Semen preservation in stallions: possibilities and limitations. *Comp. cont. educ. pract. vet.*, v.13, n.2, p.289-291, 1991.
- 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.; 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.
- VIEIRA, M.J.; MATTOS, A.L.G.; MALSCHITZKY, E. *et al.* Agentes antimicrobianos no diluente de sêmen equino e seus efeitos na motilidade, na membrana acrossômica e nas taxas de prenhez. *Acta. sci. vet.*, v.30, p.93-99, 2002.
- 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. seyley*, 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.
- WENDT, K.M.; LOVE, C.C.; BRINSKO, S.P. *et al.* Effect of extender pH on motility characteristics of cool-stored equine spermatozoa. *Theriogenology*, v.58, p.321-324, 2002.
- 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.

7. ANEXOS

Égua	Idade	Categoria
Reprodutor	Tratamento	Parto/Sexo

Data																									
IA Cobertura																									
Útero Cérvix																									
Ovário Direito																									
Ovário Esquerdo																									

Diagnóstico de gestação	
Data	Achados

Figura 7A: Ficha de controle reprodutivo individual das éguas (adaptado de Palhares, 1987)

Reprodutor: _____ **Data:** _____ **Hora da coleta:** _____

Nº de montas/ejaculado: _____ Nº do ejaculado: _____

Volume (mL): _____ **Coloração:** _____ **Odor:** _____

	Motilidade (%):	Vigor (0-5):	Obs:
Fresco	_____	_____	_____
Diluído I	_____	_____	_____
Diluído II	_____	_____	_____
Resf I	_____	_____	_____
Resf II	_____	_____	_____

Cálculo: concentração / volume do diluidor

_____ + _____ = _____ x 5 = _____ x 10⁶ spz/mL (A)

2

(A) _____ x (mot.) _____ = _____ móveis/ml (B)

_____ 400 = _____ ml sêmen/dose (C)

(B)

DI N° doses _____ x 20mL(dose IA) = _____

N° doses _____ x _____ mL de sêmen = _____

DII N° doses _____ x 20mL(dose IA) = _____

N° doses _____ x _____ mL de sêmen = _____

-Horário da Diluição:

-Horário do Resfriamento:

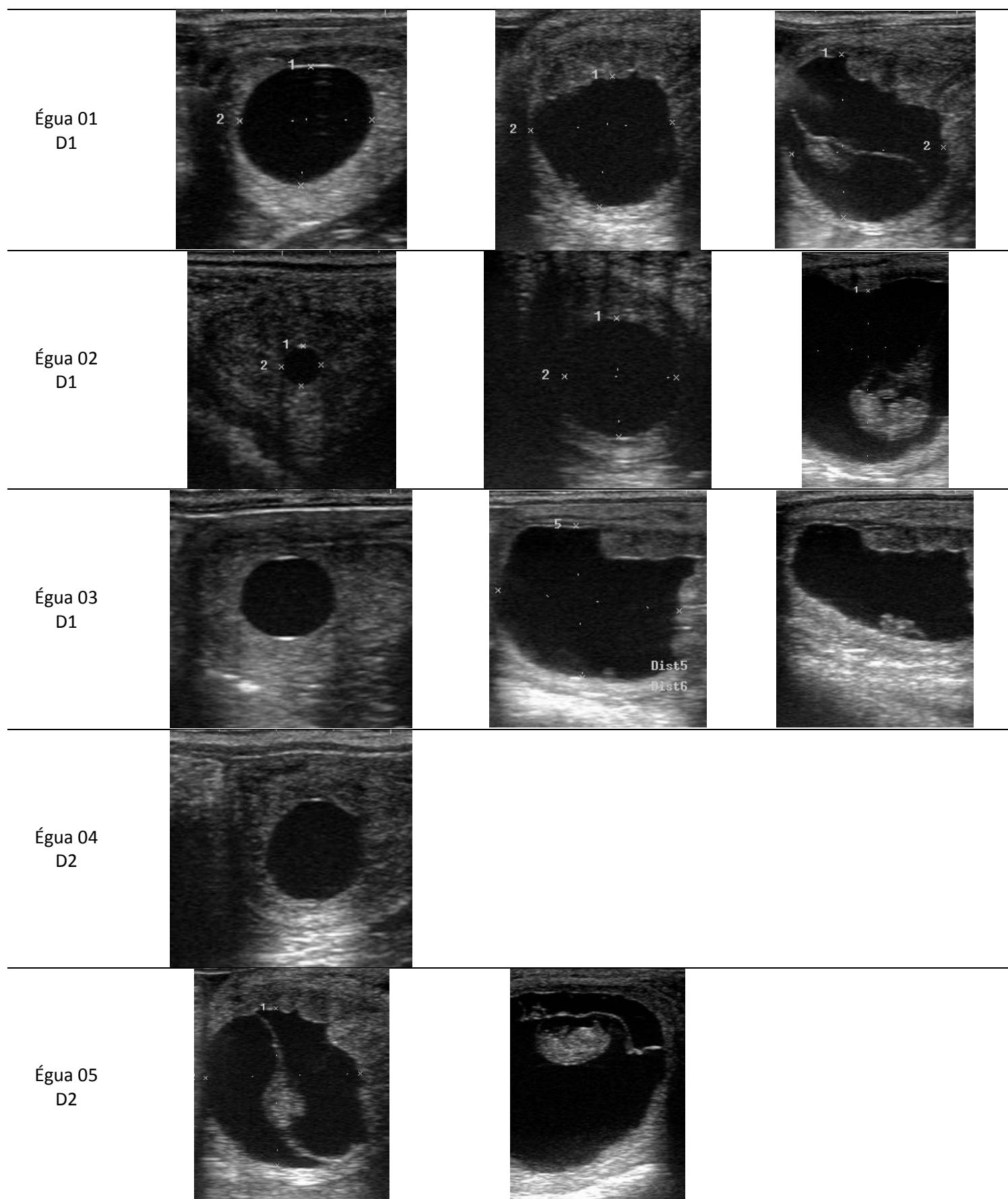
-Horário da Abertura:

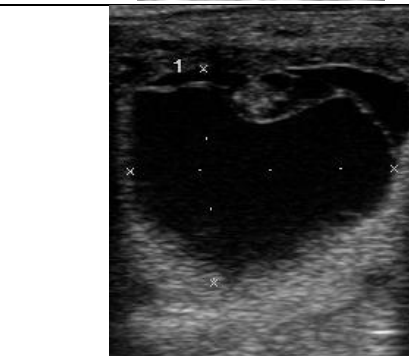
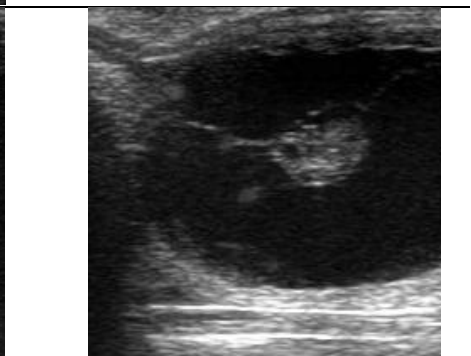
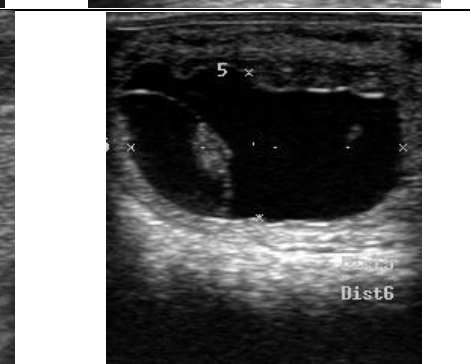
ÉGUAS INSEMINADAS

Égua-número	Data	Horário	Pré/Pós	Observações
_____	_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____	_____

Figura 7B: Ficha de avaliação física do sêmen fresco, diluído e resfriado e controle das inseminações

Figura 7C: Imagens ultrassonográficas de todas as gestações obtidas

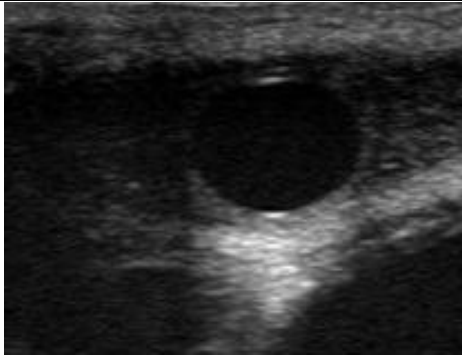


Égua 06 D2			
Égua 07 D2			
Égua 08 D1			
Égua 09 D2			
Égua 10 D2			

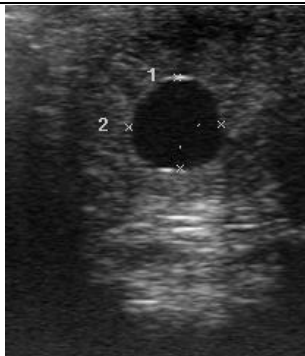
Égua 11
D1



Égua 12
D2



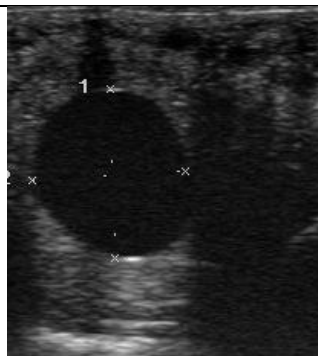
Égua 13
D1

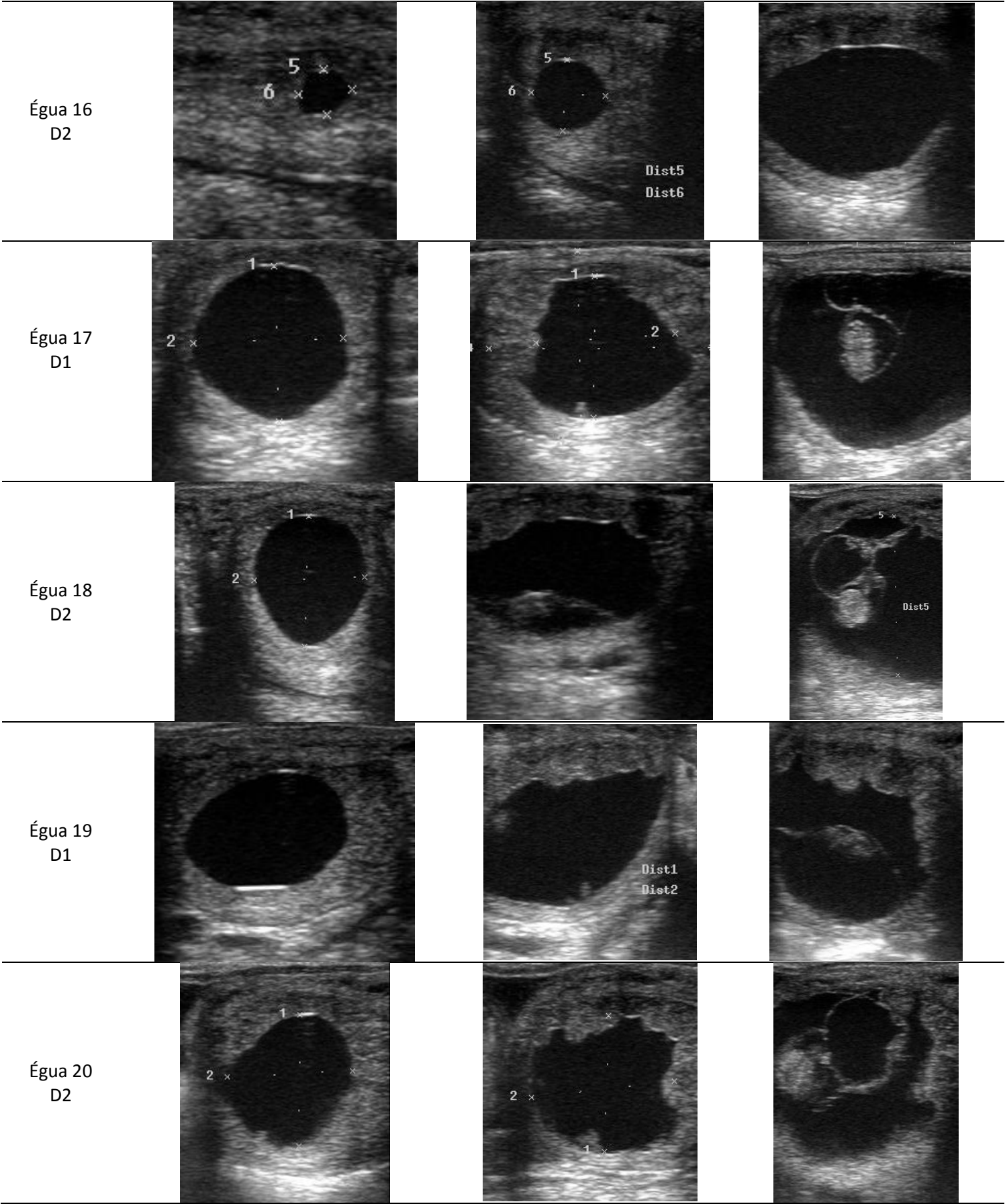


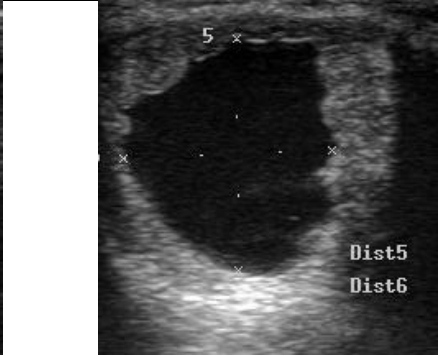
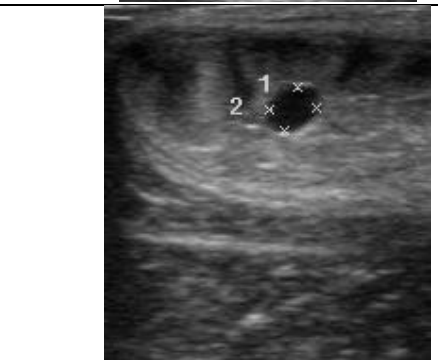
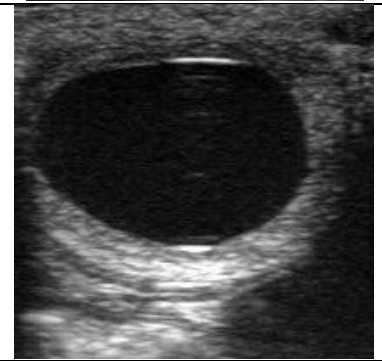
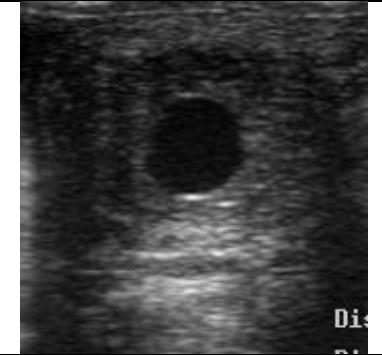
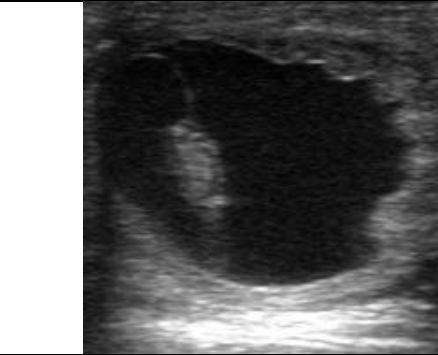
Égua 14
D2

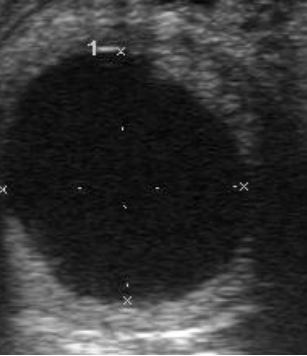
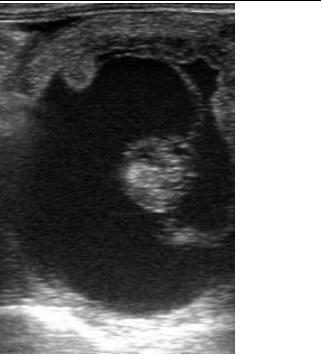
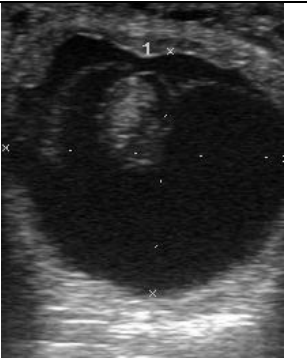
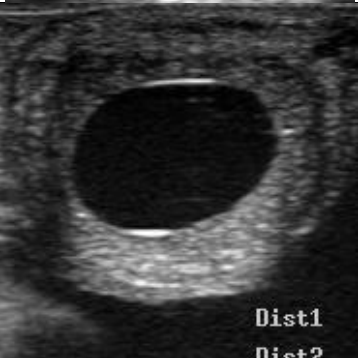
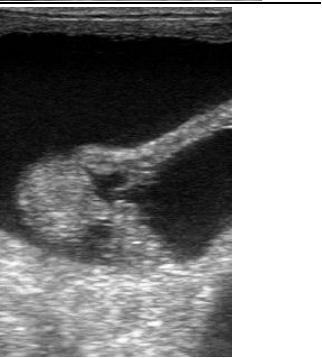
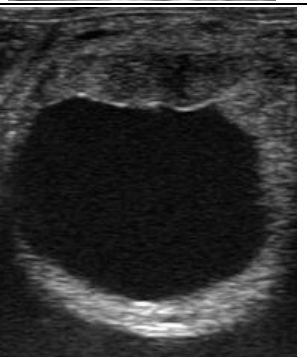
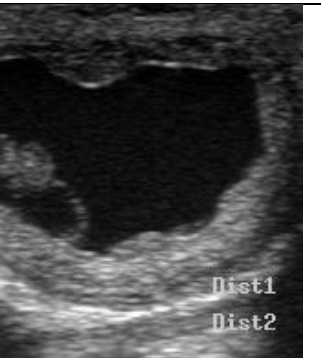
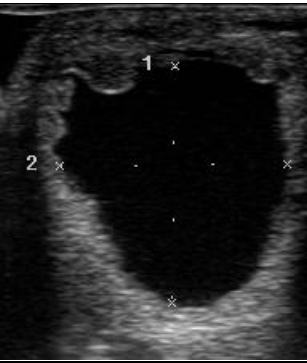
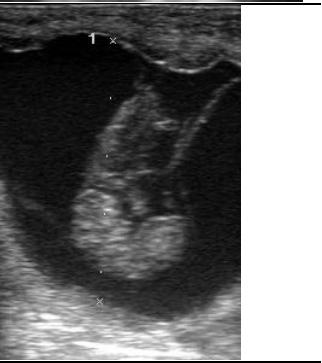


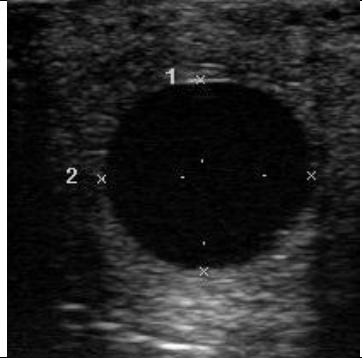
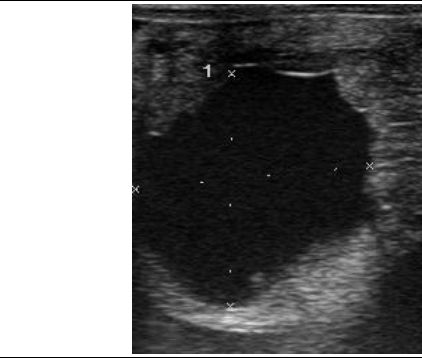
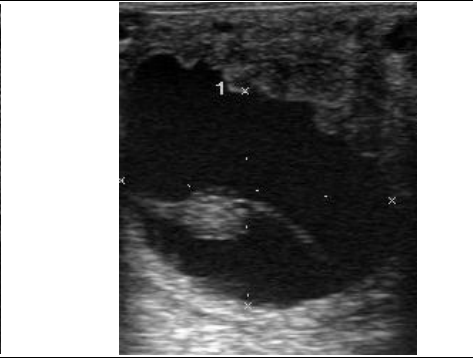
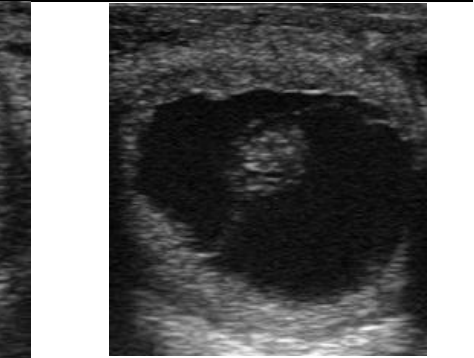
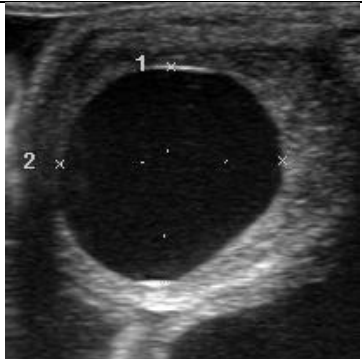
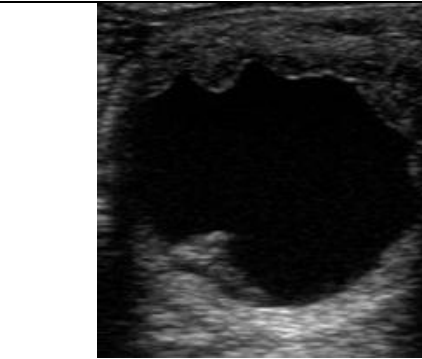
Égua 15
D1

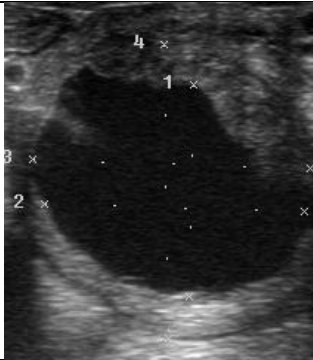
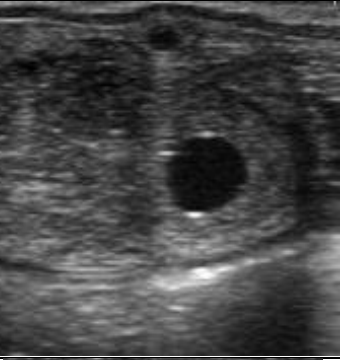
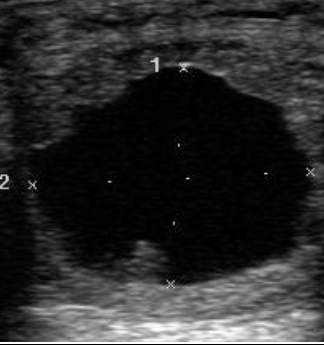


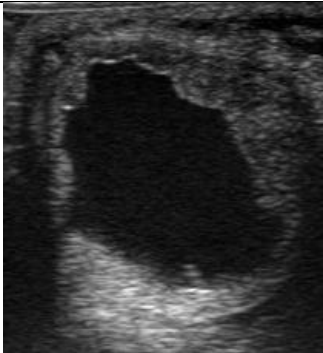
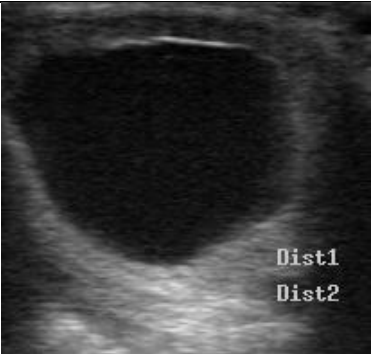
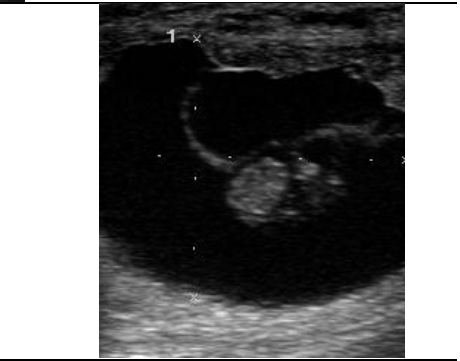


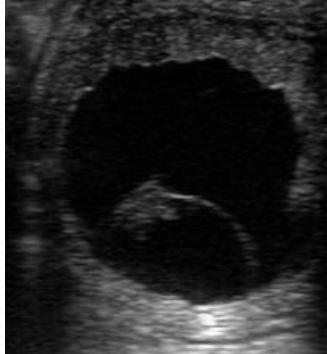
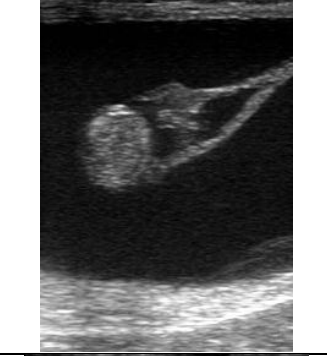
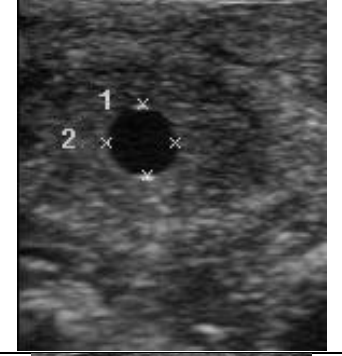
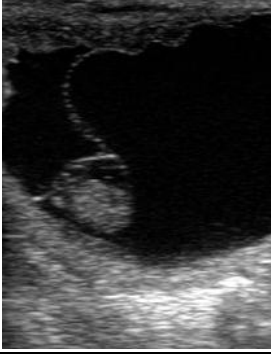
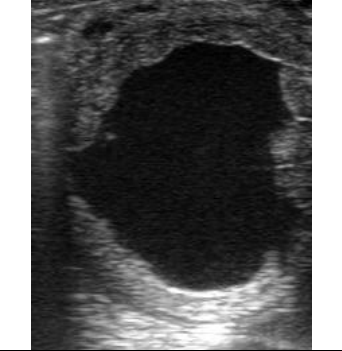
Égua 21 D2			
Égua 22 D2			
Égua 23 D1			
Égua 24 D2			
Égua 25 D2			

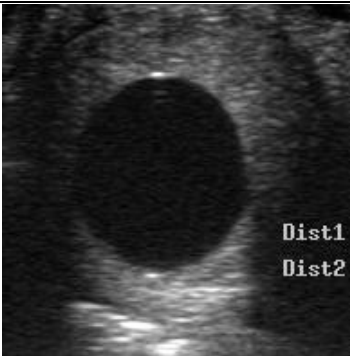
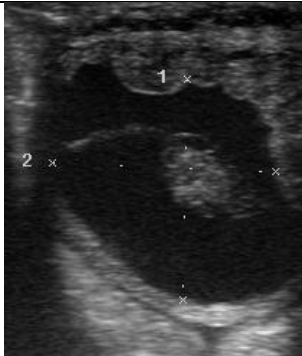
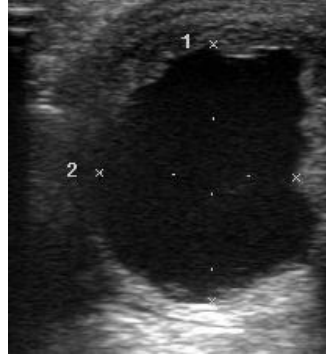
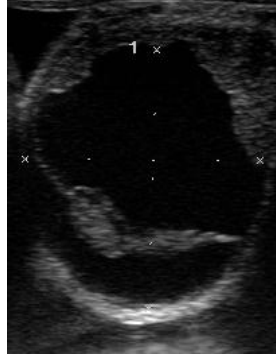
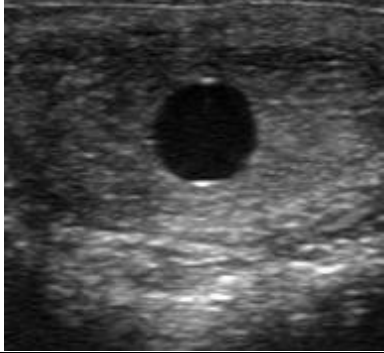
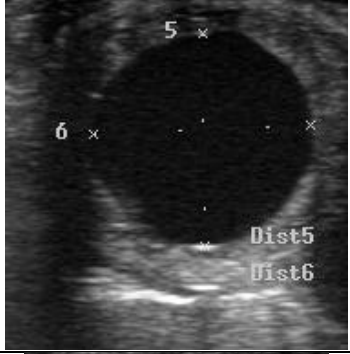
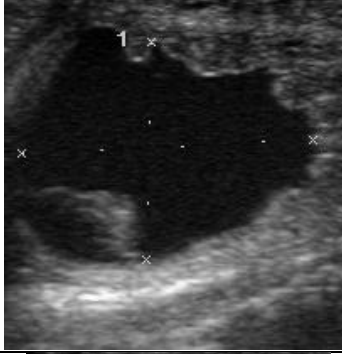
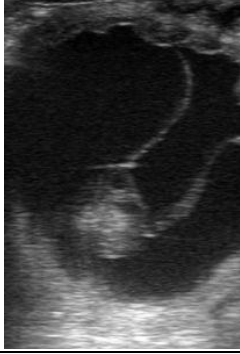
Égua 26 D1					
Égua 27 D2					
Égua 28 D2					
Égua 29 D1					
Égua 30 D2					

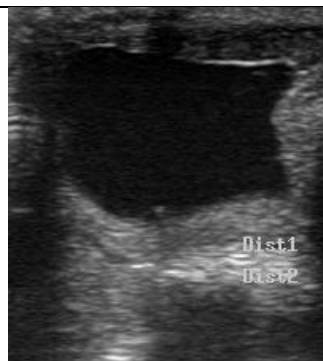
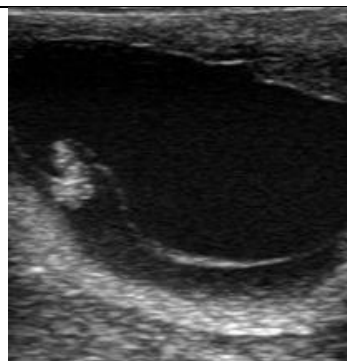
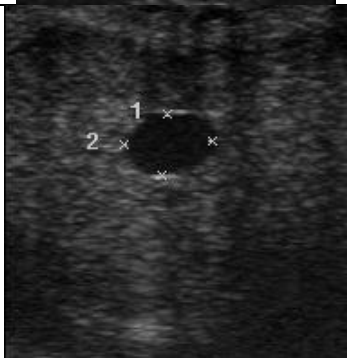
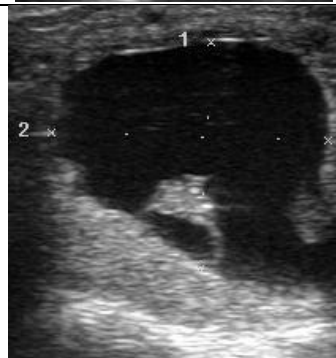
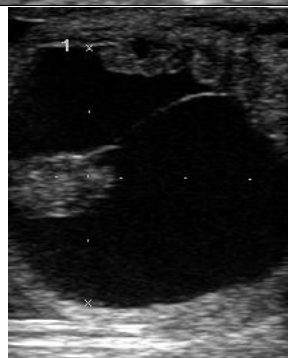
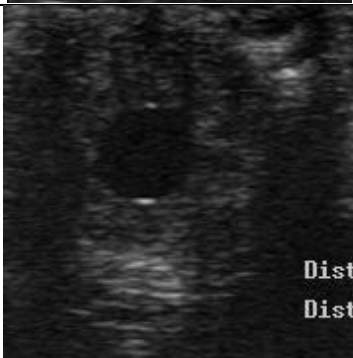
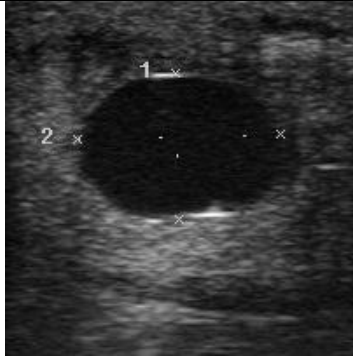
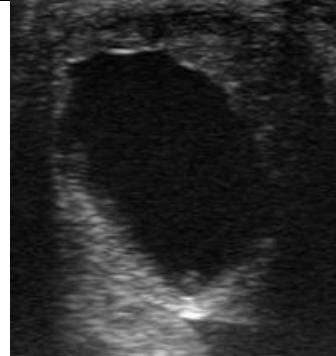
Égua 31 D1			
Égua 32 D1			
Égua 33 D1			
Égua 34 D1			
Égua 35 D2			

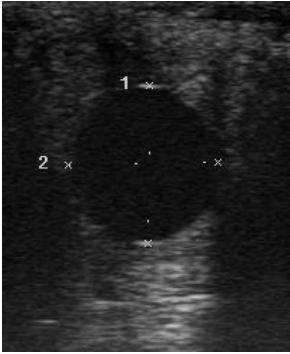
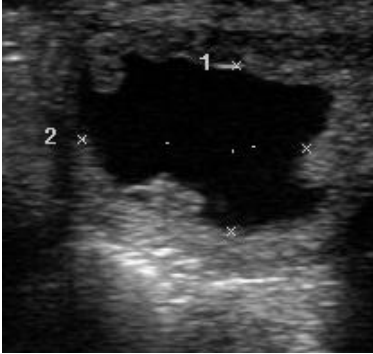
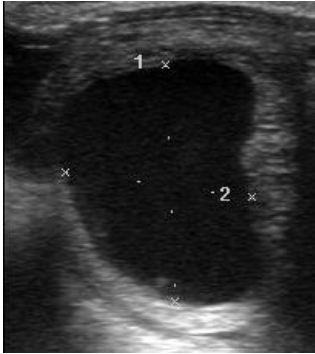
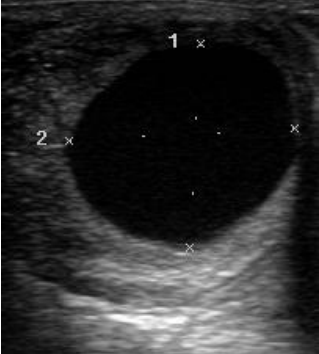
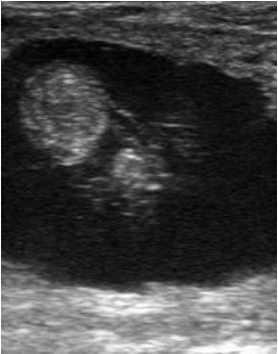
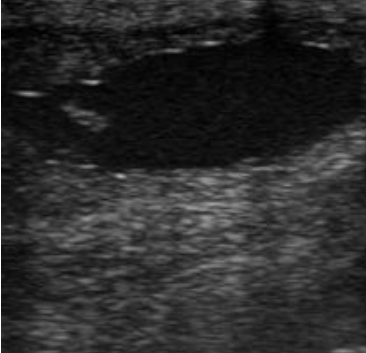
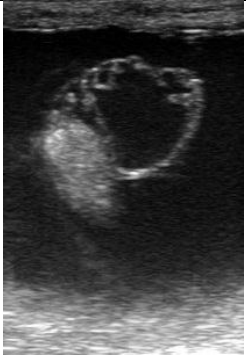
Égua 36 D2					
Égua 37 D1					
Égua 38 D1					
Égua 39 D1					
Égua 40 D2					

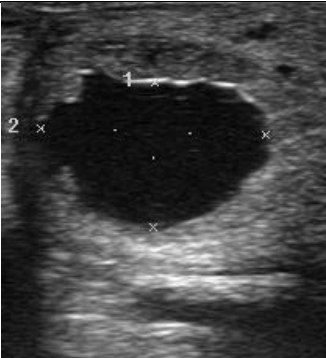
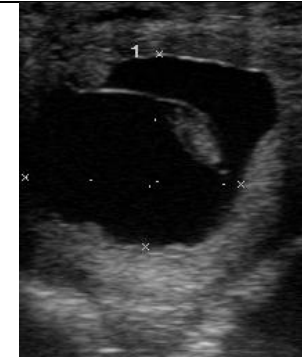
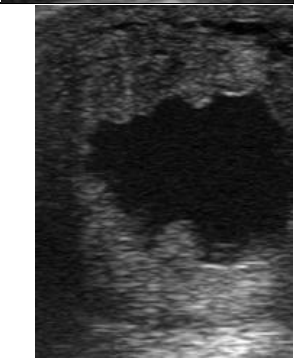
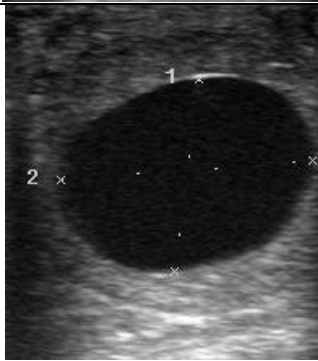
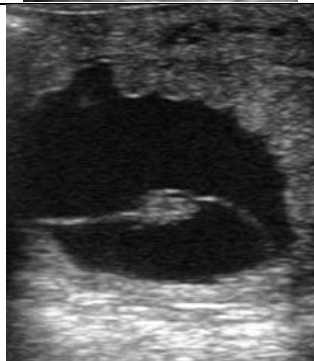
Égua 41 D1				
Égua 42 D1				
Égua 43 D1				
Égua 44 D1				
Égua 45 D1				

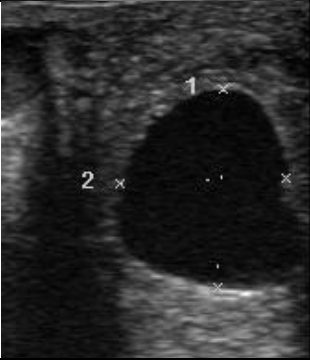
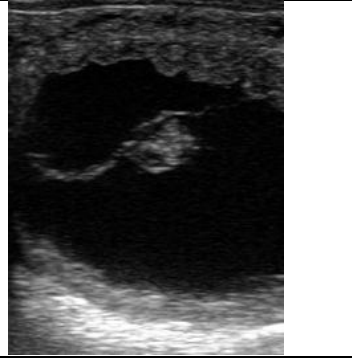
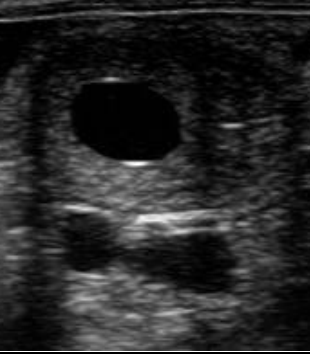
Égua 46 D2				
Égua 47 D1				
Égua 48 D2				
Égua 49 D2				
Égua 50 D2				

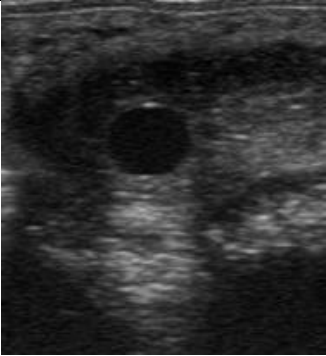
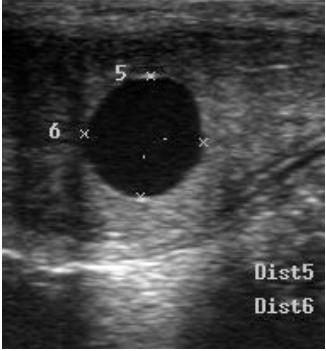
Égua 51 D1			
Égua 52 D2			
Égua 53 D1			
Égua 54 D1			
Égua 55 D2			

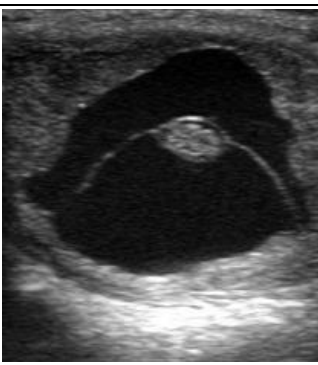
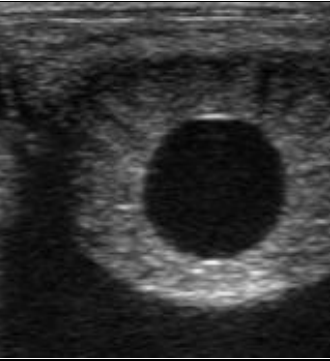
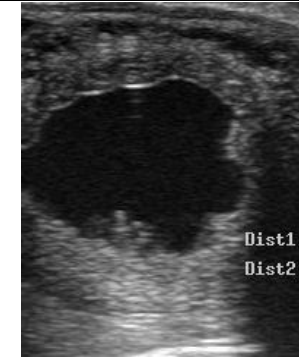
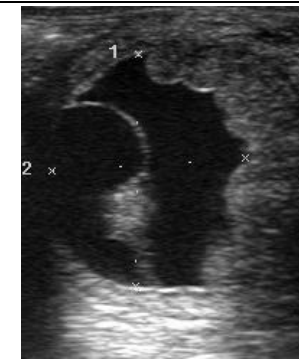
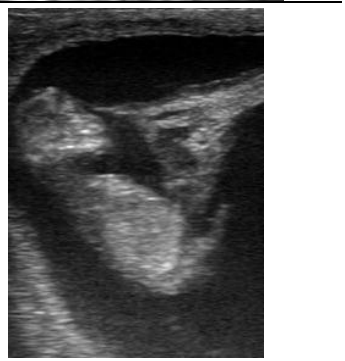
Égua 56 D1			
Égua 57 D2			
Égua 58 D2			
Égua 59 D2			
Égua 60 D1			

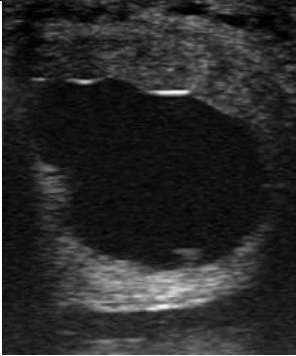
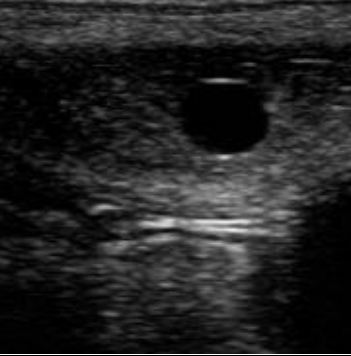
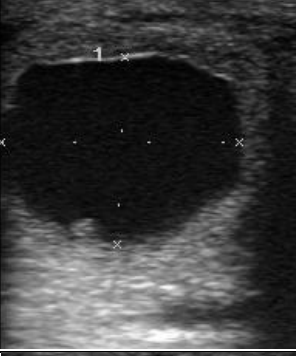
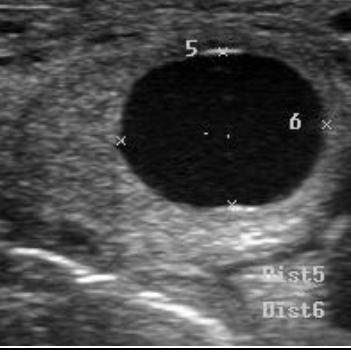
Égua 61 D1			
Égua 62 D2			
Égua 63 D2			
Égua 64 D2			
Égua 65 D1			

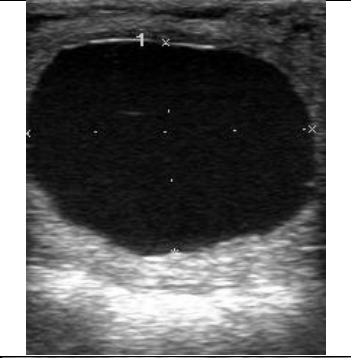
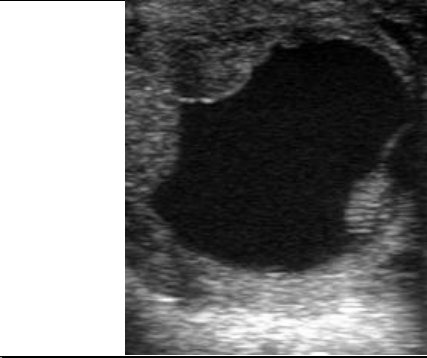
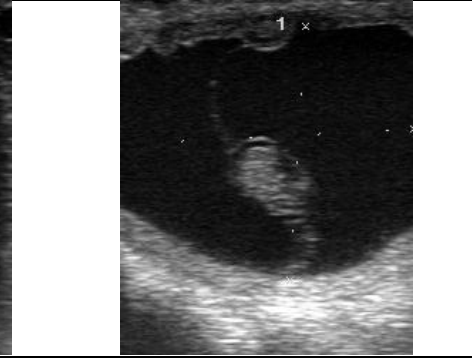
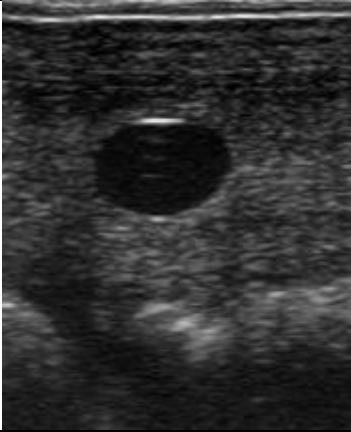
Égua 66 D1				
Égua 67 D1				
Égua 68 D2				
Égua 69 D1				
Égua 70 D1				

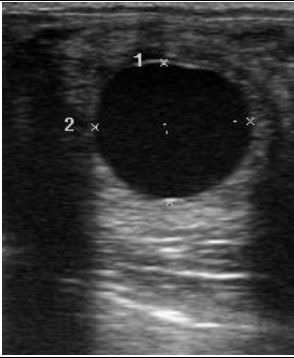
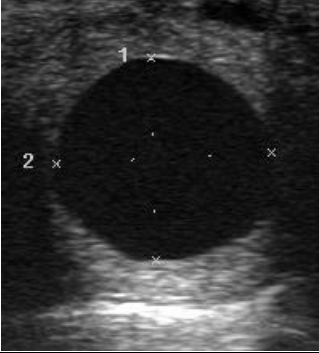
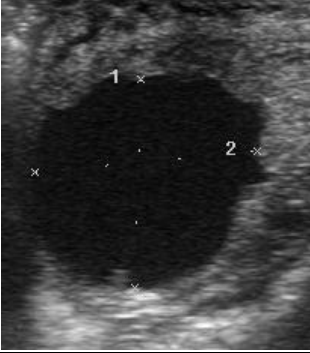
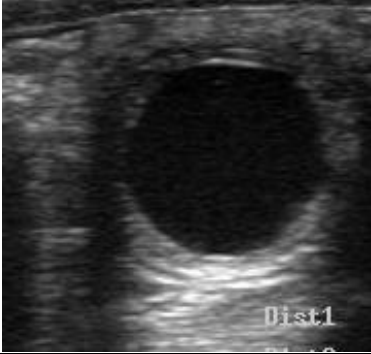
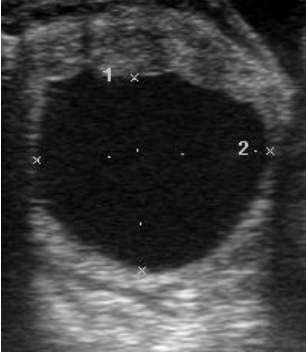
Égua 71 D1					
Égua 72 D2					
Égua 73 D2					
Égua 74 D1					
Égua 75 D1					

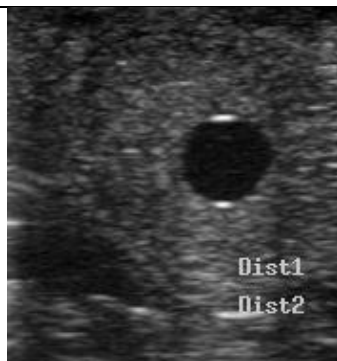
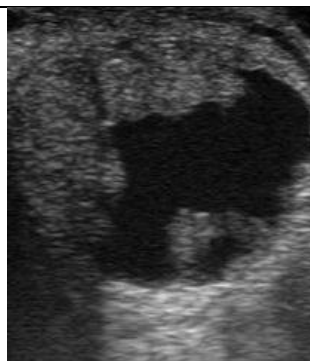
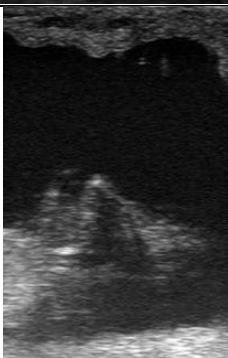
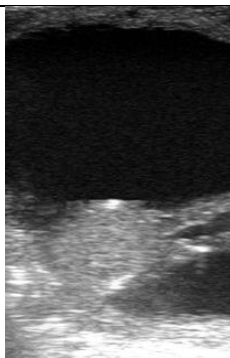
Égua 76 D1				
Égua 77 D2				
Égua 78 D2				
Égua 79 D1				
Égua 80 D1				

Égua 81 D1					
Égua 82 D2					
Égua 83 D2					
Égua 84 D2					
Égua 85 D2					

Égua 86 D2				
Égua 87 D1				
Égua 88 D1				
Égua 89 D1				
Égua 90 D2				

Égua 91 D1			
Égua 92 D1			
Égua 93 D1			
Égua 94 D1			
Égua 95 D1			

Égua 96 D2			
Égua 97 D2			
Égua 98 D2			
Égua 99 D2			
Égua 100 D2			

Égua 101 D1			
Égua 102 D1			
Égua 103 D2			
Égua 104 D2			
Égua 105 D1			

7.1. Análises estatísticas referentes à tabela 4.1

Análise 1: Comparação do número de espermatozoides por dose inseminante - D1

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	2,1170	0,3470

Análise de variância

Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	98	3690,06000000			
Modelo	02	176,14360590	88,07180295	2,41	0,0956
Erro	96	3513,91639410	36,60329577		

Coeficiente de Variação: 1,515383

Análise 2: Comparação do número de espermatozoides por dose inseminante - D2

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	6,2017	0,0450

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
Wilcoxon ($p < 0,05$)	a	b	b

Análise de variância

Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	97	2071,94426226			
Modelo	02	60,24604824	30,12302412	1,42	0,2463
Erro	95	2011,69821402	21,17577067		

Coeficiente de Variação: 1,151544

Análise 3: Comparação do volume de sêmen por ejaculado

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	43,513	0,0001

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
Wilcoxon ($p < 0,05$)	a	b	c

Análise de variância

Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	104	97601,77406286			
Modelo	02	34309,67453155	17154,83726577	27,65	0,0001
Erro	102	63292,09953131	620,51077972		

Coeficiente de Variação: 34,03531

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
SNK ($p < 0,05$)	c	b	a

Análise 4: Comparação da motilidade do sêmen fresco

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	20,503	0,0001

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
Wilcoxon ($p < 0,05$)	a	a	b

Análise de variância

Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	104	0,23194586			
Modelo	02	0,03776153	0,01888077	9,92	0,0001
Erro	102	0,19418432	0,00190377		

Coeficiente de Variação: 3,545194

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
SNK ($p < 0,05$)	a	a	b

Análise 5: Comparação do número de espermatozoides por mL no sêmen fresco

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	73,603	0,0001

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
Wilcoxon ($p < 0,05$)	a	b	c

Análise de variância

Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	104	670098,21428571			
Modelo	02	471212,10007441	235606,05003720	120,83	0,0001
Erro	102	198886,11421131	1949,86386482		

Coeficiente de Variação: 33,05891

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
SNK ($p < 0,05$)	a	b	c

Análise 6: Comparação do número de espermatozoides móveis por mL no sêmen fresco

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	73,851	0,0001

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
Wilcoxon ($p < 0,05$)	a	b	c

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	104	556319,22689905			
Modelo	02	393418,19003441	196709,09501720	123,17	0,0001
Erro	102	162901,03689905	1597,06898887		
Coeficiente de Variação: 33,39465					

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
SNK (p<0,05)	a	b	c

Análise 7: Comparação do número de espermatozoides totais por ejaculado

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	38,137	0,0001

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
Wilcoxon (p<0,05)	a	b	b

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	104	1334285580,63949000			
Modelo	02	492895971,06019500	246447985,53009700	29,88	0,0001
Erro	102	841389609,57930300	8248917,74097356		
Coeficiente de Variação: 35,13325					

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
SNK (p<0,05)	a	b	b

Análise 8: Comparação do número de espermatozoides móveis por ejaculado

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	40,819	0,0001

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
Wilcoxon (p<0,05)	a	b	b

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	104	1106560184,61822000			
Modelo	02	434360447,56605500	217180223,78302700	32,96	0,0001
Erro	102	672199737,05217100	6590193,50051149		
Coeficiente de Variação: 35,21772					

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
SNK (p<0,05)	a	b	b

Análise 9: Comparação do volume de sêmen por dose inseminante

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	73,848	0,0001

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
Wilcoxon ($p < 0,05$)	c	b	a

Análise de variância

Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	104	847,12339619			
Modelo	02	543,84555774	271,92277887	91,45	0,0001
Erro	102	303,27783845	2,97331214		
Coeficiente de Variação: 35,55458					

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
SNK ($p < 0,05$)	c	b	a

Análise 10: Comparação do volume de diluidor por dose inseminante

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	73,848	0,0001

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
Wilcoxon ($p < 0,05$)	a	b	c

Análise de variância

Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	104	847,12339619			
Modelo	02	543,84555774	271,92277887	91,45	0,0001
Erro	102	303,27783845	2,97331214		
Coeficiente de Variação: 11,38157					

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
SNK ($p < 0,05$)	a	b	c

Análise 11: Comparação do número de espermatozoides por mL de sêmen diluído - D1

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	11,955	0,0025

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
Wilcoxon ($p < 0,05$)	b	ab	a

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	98	85,01761818			
Modelo	02	7,77244165	3,88622082	4,83	0,0100
Erro	96	77,24517654	0,80463726		
Coeficiente de Variação: 3,979501					

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
SNK (p<0,05)	b	ab	a

Análise 12: Comparação do número de espermatozoides por mL de sêmen diluído - D2

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	19,544	0,0001

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
Wilcoxon (p<0,05)	b	a	a

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	99	76,97711600			
Modelo	02	9,55623827	4,77811914	6,87	0,0016
Erro	97	67,42087773	0,69506060		
Coeficiente de Variação: 3,700051					

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
SNK (p<0,05)	b	b	a

Análise 13: Comparação do número potencial de éguas inseminadas por ejaculado

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	40,532	0,0001

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
Wilcoxon (p<0,05)	a	b	b

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	104	6874,51428571			
Modelo	02	2675,17261905	1337,58630952	32,49	0,0001
Erro	102	4199,34166667	41,17001634		
Coeficiente de Variação: 36,10507					

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
SNK (p<0,05)	a	b	b

Análise 14: Comparação do número real de éguas inseminadas por ejaculado

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	0,74262	0,6898

Análise de variância

Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	104	413,96190476			
Modelo	02	3,74404762	1,87202381	0,47	0,6292
Erro	102	410,21785714	4,02174370		
Coeficiente de Variação: 56,45308					

Análise 15: Comparação da taxa de diluição

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	73,852	0,0001

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
Wilcoxon ($p < 0,05$)	a	b	c

Análise de variância

Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	104	1390,15709905			
Modelo	02	982,68867774	491,34433887	123,00	0,0001
Erro	102	407,46842131	3,99478844		
Coeficiente de Variação: 40,10303					

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
SNK ($p < 0,05$)	a	b	c

Análise 16: Comparação do intervalo coleta-diluição do sêmen

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	3,0760	0,2148

Análise de variância

Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	104	2061,96190476			
Modelo	02	5,41904762	2,70952381	0,13	0,8744
Erro	102	2056,54285714	20,16218487		
Coeficiente de Variação: 24,97216					

Análise 17: Comparação do intervalo coleta-resfriamento do sêmen

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	10,179	0,0062

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
Wilcoxon ($p < 0,05$)	a	b	b

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	104	3986,53333333			
Modelo	02	301,29166667	150,64583333	4,17	0,0182
Erro	102	3685,24166667	36,12982026		
Coeficiente de Variação: 24,97566					

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
SNK (p<0,05)	a	b	b

Análise 18: Comparação do intervalo diluição-resfriamento do sêmen

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	17,699	0,0001

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
Wilcoxon (p<0,05)	a	b	b

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	104	1182,99047619			
Modelo	02	194,50595238	97,25297619	10,04	0,0001
Erro	102	988,48452381	9,69102474		
Coeficiente de Variação: 51,96650					

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
SNK (p<0,05)	a	b	b

Análise 19: Comparação do intervalo coleta-abertura do contêiner

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	0,24114	0,8864

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	104	125,31726286			
Modelo	2	0,59899155	0,29949577	0,24	0,7832
Erro	102	124,71827131	1,22272815		
Coeficiente de Variação: 7,610856					

Análise 20: Comparação do intervalo resfriamento-abertura do contêiner

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	0,05056	0,9750

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	104	131,31455619			
Modelo	02	0,23873012	0,11936506	0,09	0,9114
Erro	102	131,07582607	1,28505712		
Coeficiente de Variação: 8,0235538					

Análise 21: Comparação da motilidade do sêmen diluído - D1

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	16,838	0,0002

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
Wilcoxon ($p<0,05$)	a	a	b

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	100	0,22021602			
Modelo	02	0,03122952	0,01561476	8,10	0,0006
Erro	98	0,18898650	0,00192843		
Coeficiente de Variação: 3,575140					

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
SNK ($p<0,05$)	a	a	b

Análise 22: Comparação da motilidade do sêmen diluído - D2

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	16,230	0,0003

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
Wilcoxon ($p<0,05$)	a	a	b

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	99	0,21437489			
Modelo	02	0,03060046	0,01530023	8,08	0,0006
Erro	97	0,18377442	0,00189458		
Coeficiente de Variação: 8,0235538					

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
SNK ($p<0,05$)	a	a	b

Análise 23: Comparação da motilidade do sêmen resfriado - D1

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	4,1653	0,1246

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	98	1,34689598			
Modelo	02	0,10158355	0,05079178	3,92	0,0232
Erro	96	1,24531243	0,01297200		
Coeficiente de Variação: 10,54012					

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
SNK (p<0,05)	a	a	b

Análise 24: Comparação da motilidade do sêmen resfriado - D2

Teste Estatístico	GL	Valor de χ^2	P
Kruskal-Wallis	02	5,4083	0,0669

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	97	1,27579535			
Modelo	02	0,09500831	0,04750416	3,82	0,0253
Erro	95	1,18078704	0,01242934		
Coeficiente de Variação: 10,33810					

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
SNK (p<0,05)	a	a	b

Análise 25: Comparação do número de espermatozoides móveis por dose inseminante pré IA - D1

Teste Estatístico	GL	Valor de χ^2	P
Kruskal-Wallis	02	2,8661	0,2386

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	96	210129,30043299			
Modelo	02	10766,46701872	5383,23350936	2,54	0,0844
Erro	94	199362,83341427	2120,88120653		
Coeficiente de Variação: 13,22766					

Análise 26: Comparação do número de espermatozoides móveis por dose inseminante pré IA - D2

Teste Estatístico	GL	Valor de χ^2	P
Kruskal-Wallis	02	3,5685	0,1679

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	97	189227,84632653			
Modelo	02	7940,03043320	3970,01521660	2,08	0,1305
Erro	95	181287,81589333	1908,29279888		
Coeficiente de Variação: 12,57651					

Análise 27: Comparação do vigor do sêmen fresco

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	18,571	0,0001

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
Wilcoxon ($p < 0,05$)	a	a	b

Análise 28: Comparação do vigor do sêmen diluído - D1

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	7,9295	0,0190

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
Wilcoxon ($p < 0,05$)	b	a	b

Análise 29: Comparação do vigor do sêmen diluído - D2

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	6,4519	0,0397

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
Wilcoxon ($p < 0,05$)	b	a	b

Análise 30: Comparação do vigor do sêmen resfriado - D1

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	64,770	0,0001

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
Wilcoxon ($p < 0,05$)	c	a	b

Análise 31: Comparação do vigor do sêmen resfriado - D2

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	64,547	0,0001

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
Wilcoxon ($p < 0,05$)	c	a	b

7.2. Análises estatísticas referentes à tabela 4.2

Análise 32: Comparação da taxa de gestação ao primeiro ciclo de acordo com o jumento e o tratamento

Frequência	J1D1	J1D2	J2D1	J2D2	J3D1	J3D2	Total
Positivo	17	13	16	12	10	9	77
Negativo	5	10	3	9	10	8	45
Total	22	23	19	21	20	17	122

Teste Estatístico	Valor	Grau de Liberdade	Probabilidade
Qui-Quadrado	8,511	5	0,130

Análise 33: Comparação da taxa de gestação ao segundo ciclo de acordo com o jumento e o tratamento

Frequência	J1D1	J1D2	J2D1	J2D2	J3D1	J3D2	Total
Positivo	2	2	1	5	3	3	16
Negativo	1	5	1	2	4	2	15
Total	3	7	2	7	7	5	31

Teste Estatístico	Valor	Grau de Liberdade	Probabilidade
Qui-Quadrado	3,219	5	0,666

Análise 34: Comparação da taxa de gestação ao terceiro ciclo de acordo com o jumento e o tratamento

Frequência	J1D1	J1D2	J2D1	J2D2	J3D1	J3D2	Total
Positivo	0	2	1	1	3	0	7
Negativo	1	2	0	1	1	1	6
Total	1	4	1	2	4	1	13

Teste Estatístico	Valor	Grau de Liberdade	Probabilidade
Qui-Quadrado	3,946	5	0,557

Análise 35: Comparação da taxa de gestação por ciclo de acordo com o jumento e o tratamento

Frequência	J1D1	J1D2	J2D1	J2D2	J3D1	J3D2	Total
Positivo	20	19	18	18	17	13	105
Negativo	7	17	4	12	15	11	66
Total	27	36	22	30	32	24	171

Teste Estatístico	Valor	Grau de Liberdade	Probabilidade
Qui-Quadrado	8,309	5	0,140

Análise 36: Comparação da taxa de gestação total de acordo com o jumento e o tratamento

Frequência	J1D1	J1D2	J2D1	J2D2	J3D1	J3D2	Total
Positivo	20	19	18	18	17	13	105
Negativo	2	4	1	3	3	4	17
Total	22	23	19	21	20	17	122

Teste Estatístico	Valor	Grau de Liberdade	Probabilidade
Qui-Quadrado	3,177	5	0,673

7.3. Análises estatísticas referentes à tabela 4.3

Análise 37: Comparação do número de ciclos por égua de acordo com o jumento e o tratamento

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	05	5,8668	0,3194

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	121	75,31967213			
Modelo	05	3,21704186	0,64340837	1,04	0,4004
Erro	116	72,10263027	0,62157440		
Coeficiente de Variação: 56,24841					

Variável	GL	Tipo I SS	Quadrado Médio	F	P
Jumento (J)	2	0,87642889	0,43821444	0,71	0,4962
Tratamento (T)	1	0,74832295	0,74832295	1,20	0,2748
interação (JXT)	2	1,59229002	0,79614501	1,28	0,2817
Variável	GL	Tipo III SS	Quadrado Médio	F	P
Jumento (J)	2	0,86517315	0,43258658	0,70	0,5007
Tratamento (T)	1	0,59302118	0,59302118	0,95	0,3307
interação (JxT)	2	1,59229002	0,79614501	1,28	0,2817

Análise 38: Comparação das idades das éguas de acordo com o jumento e o tratamento

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	05	2,1882	0,8225

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	170	3194,16081871			
Modelo	05	38,55456871	7,71091374	0,40	0,8461
Erro	165	3155,60625000	19,12488636		
Coeficiente de Variação: 47,67723					

Variável	GL	Tipo I SS	Quadrado Médio	F	P
Jumento (J)	2	26,27826377	13,13913188	0,69	0,5045
Tratamento (T)	1	1,13387301	1,13387301	0,06	0,8079
interação (JXT)	2	11,14243194	5,57121597	0,29	0,7477
Variável	GL	Tipo III SS	Quadrado Médio	F	P
Jumento (J)	2	26,12942958	13,06471479	0,68	0,5065
Tratamento (T)	1	1,18367735	1,18367735	0,06	0,8038
interação (JxT)	2	11,14243194	5,57121597	0,29	0,7477

Análise 39: Comparação do volume de sêmen por dose inseminante de acordo o jumento e o tratamento

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	05	221,63	0,0001

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste					
	J1D1	J1D2	J2D1	J2D2	J3D1	J3D2
Wilcoxon ($p < 0,05$)	c	c	b	b	a	a

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	2310,64624586			
Modelo	05	1456,03535730	291,20707146	104,95	0,001
Erro	308	854,61088856	2,77471068		
Coeficiente de Variação: 35,28600					

Variável	GL	Tipo I SS	Quadrado Médio	F	P
Jumento (J)	2	1455,52756641	727,76378321	262,28	0,0001
Tratamento (T)	1	0,03271953	0,03271953	0,01	0,9136
interação (JXT)	2	0,47507136	0,23753568	0,09	0,9180
Variável	GL	Tipo III SS	Quadrado Médio	F	P
Jumento (J)	2	1428,02479825	714,01239913	257,33	0,0001
Tratamento (T)	1	0,01470627	0,01470627	0,01	0,9420
interação (JxT)	2	0,47507136	0,23753568	0,09	0,9180

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
SNK (p<0,05)	c	b	a

Análise 40: Comparação do volume de diluidor por dose inseminante de acordo com o jumento e o tratamento

Teste Estatístico	GL	Valor de χ^2	P
Kruskal-Wallis	05	221,63	0,0001

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste					
	J1D1	J1D2	J2D1	J2D2	J3D1	J3D2
Wilcoxon (p<0,05)	a	a	b	b	c	c

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	2310,64624586			
Modelo	05	1456,03535730	291,20707146	104,95	0,001
Erro	308	854,61088856	2,77471068		
Coeficiente de Variação: 10,90198					

Variável	GL	Tipo I SS	Quadrado Médio	F	P
Jumento (J)	2	1455,52756641	727,76378321	262,28	0,0001
Tratamento (T)	1	0,03271953	0,03271953	0,01	0,9136
interação (JXT)	2	0,47507136	0,23753568	0,09	0,9180
Variável	GL	Tipo III SS	Quadrado Médio	F	P
Jumento (J)	2	1428,02479825	714,01239913	257,33	0,0001
Tratamento (T)	1	0,01470627	0,01470627	0,01	0,9420
interação (JxT)	2	0,47507136	0,23753568	0,09	0,9180

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
SNK (p<0,05)	a	b	c

Análise 41: Comparação da concentração espermática à IA de acordo com o jumento e o tratamento

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	05	9,4124	0,0937

Análise de variância

Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	581700,47748539			
Modelo	05	11319,67790297	2263,93558059	1,22	0,2983
Erro	308	570380,79958241	1851,88571293		
Coeficiente de Variação: 12,36893					

Variável	GL	Tipo I SS	Quadrado Médio	F	P
Jumento (J)	2	9361,85388839	4680,92694420	2,53	0,0815
Tratamento (T)	1	352,81996185	352,81996185	0,19	0,6628
interação (JXT)	2	1605,00405273	802,50202637	0,43	0,6487
Variável	GL	Tipo III SS	Quadrado Médio	F	P
Jumento (J)	2	9462,04317603	4731,02158802	2,55	0,0794
Tratamento (T)	1	222,84830622	222,84830622	0,12	0,7289
interação (JxT)	2	1605,00405273	802,50202637	0,43	0,6487

Análise 42: Comparação da motilidade espermática à IA de acordo com o jumento e o tratamento

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	05	13,148	0,0220

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste					
	J1D1	J1D2	J2D1	J2D2	J3D1	J3D2
Wilcoxon ($p < 0,05$)	bc	ab	a	abc	c	c

Análise de variância

Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	3,73897759			
Modelo	05	0,17371890	0,03474378	3,00	0,0116
Erro	308	3,56525870	0,01157552		
Coeficiente de Variação: 9,971450					

Variável	GL	Tipo I SS	Quadrado Médio	F	P
Jumento (J)	2	0,15747081	0,07873541	6,80	0,0013
Tratamento (T)	1	0,00431055	0,00431055	0,37	0,5433
interação (JXT)	2	0,01193754	0,00596877	0,52	0,5976
Variável	GL	Tipo III SS	Quadrado Médio	F	P
Jumento (J)	2	0,15115947	0,07557973	6,53	0,0017
Tratamento (T)	1	0,00303926	0,00303926	0,26	0,6087
interação (JxT)	2	0,01193754	0,00596877	0,52	0,5976

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
SNK ($p < 0,05$)	a	a	b

Análise 43: Comparação do vigor espermático à IA de acordo com o jumento e o tratamento

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	05	213,06	0,0001

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste					
	J1D1	J1D2	J2D1	J2D2	J3D1	J3D2
Wilcoxon ($p < 0,05$)	d	c	a	a	b	b

Análise 44: Comparação do tempo coleta-diluição do sêmen de acordo com o jumento e o tratamento

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	05	6,4999	0,2606

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	5882,49681529			
Modelo	05	75,81757771	15,16351554	0,80	0,5473
Erro	308	5806,67923758	18,85285467		
Coeficiente de Variação: 23,46616					

Variável	GL	Tipo I SS	Quadrado Médio	F	P
Jumento (J)	2	35,27405234	17,63702617	0,94	0,3935
Tratamento (T)	1	35,09623981	35,09623981	1,86	0,1734
interação (JXT)	2	5,44728556	2,72364278	0,14	0,8655
Variável	GL	Tipo III SS	Quadrado Médio	F	P
Jumento (J)	2	42,98742901	21,49371450	1,14	0,3211
Tratamento (T)	1	32,55191172	32,55191172	1,73	0,1898
interação (JxT)	2	5,44728556	2,72364278	0,14	0,8655

Análise 45: Comparação do tempo coleta-resfriamento do sêmen de acordo com o jumento e o tratamento

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	05	34,082	0,0001

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste					
	J1D1	J1D2	J2D1	J2D2	J3D1	J3D2
Wilcoxon ($p < 0,05$)	a	b	bc	c	c	c

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	10805,09554140			
Modelo	05	1023,10099774	204,62019955	6,44	0,0001
Erro	308	9781,99454366	31,75972254		
Coeficiente de Variação: 22,15842					

Variável	GL	Tipo I SS	Quadrado Médio	F	P
Jumento (J)	2	858,61893230	429,30946615	13,52	0,0001
Tratamento (T)	1	144,78241142	144,78241142	4,56	0,0335
interação (JXT)	2	19,69965402	9,84982701	0,31	0,7336
Variável	GL	Tipo III SS	Quadrado Médio	F	P
Jumento (J)	2	921,33623761	460,66811881	14,50	0,0001
Tratamento (T)	1	132,77218318	132,77218318	4,18	0,0417
interação (JxT)	2	19,69965402	9,84982701	0,31	0,7336

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
SNK (p<0,05)	a	b	b

Análise 46: Comparação do tempo coleta-abertura do contêiner de acordo com o jumento e o tratamento

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	05	5,0698	0,4074

Análise de variância

Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	366,68688535			
Modelo	05	7,40923058	1,48184612	1,27	0,2765
Erro	308	359,27765477	1,16648589		
Coeficiente de Variação: 7,517734					

Variável	GL	Tipo I SS	Quadrado Médio	F	P
Jumento (J)	2	6,01414503	3,00707251	2,58	0,0776
Tratamento (T)	1	0,00024344	0,00024344	0,00	0,9885
interação (JXT)	2	1,39484211	0,69742105	0,60	0,5506
Variável	GL	Tipo III SS	Quadrado Médio	F	P
Jumento (J)	2	6,21450086	3,10725043	2,66	0,0713
Tratamento (T)	1	0,00258800	0,00258800	0,00	0,9625
interação (JxT)	2	1,39484211	0,69742105	0,60	0,5506

Análise 47: Comparação do tempo resfriamento-IA de acordo com o jumento e o tratamento

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	05	5,6259	0,3443

Análise de variância

Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	390,71250096			
Modelo	05	8,95126381	1,79025276	1,44	0,2081
Erro	308	381,76123715	1,23948454		
Coeficiente de Variação: 7,878688					

Variável	GL	Tipo I SS	Quadrado Médio	F	P
Jumento (J)	2	7,68821227	3,84410614	3,10	0,0464
Tratamento (T)	1	0,09277300	0,09277300	0,07	0,7846
interação (JXT)	2	1,17027854	0,58513927	0,47	0,6242
Variável	GL	Tipo III SS	Quadrado Médio	F	P
Jumento (J)	2	7,62986464	3,81493232	3,08	0,0475
Tratamento (T)	1	0,11174040	0,11174040	0,09	0,7642
interação (JxT)	2	1,17027854	0,58513927	0,47	0,6242

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
SNK (p<0,05)	a	ab	b

Análise 48: Comparação do tempo coleta-IA de acordo com o jumento e o tratamento

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	05	7,4713	0,1879

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	378,75214682			
Modelo	05	11,51412779	2,30282556	1,93	0,0889
Erro	308	367,23801903	1,19233123		
Coeficiente de Variação: 7,501863					

Variável	GL	Tipo I SS	Quadrado Médio	F	P
Jumento (J)	2	10,26812779	5,13406389	4,31	0,0143
Tratamento (T)	1	0,01888899	0,01888899	0,02	0,8999
interação (JXT)	2	1,22711101	0,61355551	0,51	0,5983
Variável	GL	Tipo III SS	Quadrado Médio	F	P
Jumento (J)	2	10,36411881	5,18205941	4,35	0,0138
Tratamento (T)	1	0,03408849	0,03408849	0,03	0,8658
interação (JxT)	2	1,22711101	0,61355551	0,51	0,5983

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
SNK (p<0,05)	a	ab	b

Análise 49: Comparação do número de IA/ciclo de acordo com o jumento e o tratamento

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	05	6,3463	0,2740

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	170	75,41520468			
Modelo	05	3,28559609	0,65711922	1,50	0,1915
Erro	165	72,12960859	0,43714914		
Coeficiente de Variação: 36,00653					

Variável	GL	Tipo I SS	Quadrado Médio	F	P
Jumento (J)	2	2,18107769	1,09053885	2,49	0,0856
Tratamento (T)	1	0,61477917	0,61477917	1,41	0,2374
interação (JXT)	2	0,48973923	0,24486962	0,56	0,5722
Variável	GL	Tipo III SS	Quadrado Médio	F	P
Jumento (J)	2	1,76571582	0,88285791	2,02	0,1360
Tratamento (T)	1	0,55298393	0,55298393	1,26	0,2623
interação (JxT)	2	0,48973923	0,24486962	0,56	0,5722

Análise 50: Comparação do número de IA/ciclo positivo de acordo com o jumento e o tratamento

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	05	2,7519	0,7382

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	104	45,04761905			
Modelo	05	1,39932183	0,27986437	0,63	0,6736
Erro	99	43,64829721	0,44089189		
Coeficiente de Variação: 34,85984					

Variável	GL	Tipo I SS	Quadrado Médio	F	P
Jumento (J)	2	0,58095238	0,29047619	0,66	0,5197
Tratamento (T)	1	0,53380471	0,53380471	1,21	0,2739
interação (JXT)	2	0,28456475	0,14228237	0,32	0,7249
Variável	GL	Tipo III SS	Quadrado Médio	F	P
Jumento (J)	2	0,56853476	0,28426738	0,64	0,5270
Tratamento (T)	1	0,55535524	0,55535524	1,26	0,2644
interação (JxT)	2	0,28456475	0,14228237	0,32	0,7249

Análise 51: Comparação do número de IA/ciclo negativo de acordo com o jumento e o tratamento

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	05	4,2458	0,5146

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	65	29,09090909			
Modelo	5	2,40194805	0,48038961	1,08	0,3806
Erro	60	26,68896104	0,44481602		
Coeficiente de Variação: 38,61262					

Variável	GL	Tipo I SS	Quadrado Médio	F	P
Jumento (J)	2	2,04122960	1,02061480	2,29	0,1096
Tratamento (T)	1	0,33501166	0,33501166	0,75	0,3889
interação (JXT)	2	0,02570679	0,01285339	0,03	0,9715
Variável	GL	Tipo III SS	Quadrado Médio	F	P
Jumento (J)	2	1,44728420	0,72364210	1,63	0,2051
Tratamento (T)	1	0,25485376	0,25485376	0,57	0,4521
interação (JxT)	2	0,02570679	0,01285339	0,03	0,9715

Análise 52: Comparação entre o número de ciclos por égua gestante por jumento e tratamento

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	05	6,2587	0,2819

Análise de variância

Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	104	69,71428571			
Modelo	05	4,00527431	0,80105486	1,21	0,3116
Erro	99	65,70901140	0,66372739		
Coeficiente de Variação: 57,02863					

Variável	GL	Tipo I SS	Quadrado Médio	F	P
Jumento (J)	2	1,70231990	0,85115995	1,28	0,2819
Tratamento (T)	1	0,58790392	0,58790392	0,89	0,3489
interação (JXT)	2	1,71505048	0,85752524	1,29	0,2793
Variável	GL	Tipo III SS	Quadrado Médio	F	P
Jumento (J)	2	1,53222944	0,76611472	1,15	0,3195
Tratamento (T)	1	0,36970956	0,36970956	0,56	0,4572
interação (JxT)	2	1,71505048	0,85752524	1,29	0,2793

Análise 53: Comparação da eficiência de prenhez de acordo com o jumento e o tratamento

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	05	13,413	0,0198

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste					
	J1D1	J1D2	J2D1	J2D2	J3D1	J3D2
Wilcoxon ($p < 0,05$)	ab	c	a	bc	c	bc

7.4. Análises estatísticas referentes à tabela 4.4

Análise 54: Comparação da taxa de gestação ao primeiro ciclo de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor

Frequência	D1	D2	Total
Positivo	43	34	77
Negativo	18	27	45
Total	61	61	122

Teste Estatístico	Valor	Grau de Liberdade	Probabilidade
Qui-Quadrado	2,852	01	0,091

Análise 55: Comparação da taxa de gestação ao segundo ciclo de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor

Frequência	D1	D2	Total
Positivo	6	10	16
Negativo	6	9	15
Total	12	19	31

Teste Estatístico	Valor	Grau de Liberdade	Probabilidade
Qui-Quadrado	0,020	01	0,886

Análise 56: Comparação da taxa de gestação ao terceiro ciclo de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor

Frequência	D1	D2	Total
Positivo	4	3	7
Negativo	2	4	6
Total	6	7	13

Teste Estatístico	Valor	Grau de Liberdade	Probabilidade
Qui-Quadrado	0,737	01	0,391

Análise 57: Comparação da taxa de gestação por ciclo de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor

Frequência	D1	D2	Total
Positivo	55	50	105
Negativo	26	40	66
Total	81	90	171

Teste Estatístico	Valor	Grau de Liberdade	Probabilidade
Qui-Quadrado	2,742	01	0,098

7.5. Análises estatísticas referentes à tabela 4.5

Análise 58: Comparação da taxa de gestação total ao primeiro ciclo de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor

Frequência	D1	D2	Total
Positivo	43	34	77
Negativo	6	8	14
Total	49	42	91

Teste Estatístico	Valor	Grau de Liberdade	Probabilidade
Qui-Quadrado	0,804	01	0,370

Análise 59: Comparação da taxa de gestação total ao segundo ciclo de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor

Frequência	D1	D2	Total
Positivo	6	10	16
Negativo	0	2	2
Total	6	12	18

Teste Estatístico	Valor	Grau de Liberdade	Probabilidade
Qui-Quadrado	1,125	01	0,289

Análise 60: Comparação da taxa de gestação total ao terceiro ciclo de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor

Frequência	D1	D2	Total
Positivo	4	3	7
Negativo	0	1	1
Total	4	4	8

Teste Estatístico	Valor	Grau de Liberdade	Probabilidade
Qui-Quadrado	1,143	01	0,285

Análise 61: Comparação da taxa de gestação total de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor

Frequência	D1	D2	Total
Positivo	55	50	105
Negativo	6	11	17
Total	61	61	122

Teste Estatístico	Valor	Grau de Liberdade	Probabilidade
Qui-Quadrado	1,709	01	0,191

7.6. Análises estatísticas referentes à tabela 4.6

Análise 62: Comparação do número de ciclos por égua de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor

Teste Estatístico	Z	S	P
Wilcoxon	-1,34298	3551,00	0,1793

Análise de variância						
Tratamento	N	Média	EP	Mínimo	Máximo	P
D1	61	1,32786885	0,09558938	1,00000000	4,00000000	0,3037
D2	61	1,47540984	0,10611510	1,00000000	4,00000000	

Análise 63: Comparação da idade das éguas de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor

Teste Estatístico	Z	S	P
Wilcoxon	0,164415	7019,50	0,8694

Análise de variância						
Tratamento	N	Média	EP	Mínimo	Máximo	P
D1	81	9,20370370	0,49797257	2,50000000	18,50000000	0,9292
D2	90	9,14444444	0,44513211	2,50000000	17,00000000	

Análise 64: Comparação do volume de sêmen por dose inseminante de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor

Teste Estatístico	Z	S	P
Wilcoxon	1,32362	23583,0	0,1856

Análise de variância						
Tratamento	N	Média	EP	Mínimo	Máximo	P
D1	143	4,95125874	0,23365477	1,31000000	12,55000000	0,1695
D2	171	4,52789474	0,20216331	1,31000000	12,55000000	

Análise 65: Comparação do volume de diluidor por dose inseminante de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor

Teste Estatístico	Z	S	P
Wilcoxon	-1,32362	21462,0	0,1856

Análise de variância						
Tratamento	N	Média	EP	Mínimo	Máximo	P
D1	143	15,04874126	0,23365477	7,45000000	18,69000000	0,1695
D2	171	15,47210526	0,20216331	7,45000000	18,69000000	

Análise 66: Comparação da concentração espermática à IA de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor

Teste Estatístico	Z	S	P
Wilcoxon	-0,270922	22305,0	0,7865

Análise de variância						
Tratamento	N	Média	EP	Mínimo	Máximo	P
D1	143	346,24524476	4,24576655	53,39000000	400,71000000	0,5307
D2	171	349,31421053	2,71904323	188,33000000	400,37000000	

Análise 67: Comparação da motilidade espermática à IA de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor

Teste Estatístico	Z	S	P
Wilcoxon	-0,745649	22025,5	0,4559

Análise de variância						
Tratamento	N	Média	EP	Mínimo	Máximo	P
D1	143	1,07223986	0,01061413	0,32180000	1,24900000	0,3187
D2	171	1,08460936	0,00703667	0,68470000	1,24900000	

Análise 68: Comparação do vigor espermático à IA de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor

Teste Estatístico	Z	S	P
Wilcoxon	-1,46165	21377,5	0,1438

Análise de variância						
Tratamento	N	Média	EP	Mínimo	Máximo	P
D1	143	4,01398601	0,07308810	2,00000000	5,00000000	0,0488
D2	171	4,19005848	0,05377817	2,00000000	5,00000000	

Análise 69: Comparação do tempo coleta-diluição do sêmen de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor

Teste Estatístico	Z	S	P
Wilcoxon	1,02964	23344,5	0,3032

Análise de variância

Tratamento	N	Média	EP	Mínimo	Máximo	P
D1	143	18,82517483	0,38183860	12,00000000	34,00000000	0,2293
D2	171	18,23391813	0,31555496	12,00000000	34,00000000	

Análise 70: Comparação do tempo coleta-resfriamento do sêmen de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor

Teste Estatístico	Z	S	P
Wilcoxon	1,67269	23860,5	0,0944

Análise de variância

Tratamento	N	Média	EP	Mínimo	Máximo	P
D1	143	26,00699301	0,49248229	15,00000000	41,00000000	0,1136
D2	171	24,95321637	0,44642931	15,00000000	41,00000000	

Análise 71: Comparação do tempo coleta-abertura do contêiner de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor

Teste Estatístico	Z	S	P
Wilcoxon	-0,142932	22407,5	0,8863

Análise de variância

Tratamento	N	Média	EP	Mínimo	Máximo	P
D1	143	14,35055944	0,08868396	12,47000000	16,50000000	0,8111
D2	171	14,37994152	0,08436739	12,47000000	16,83000000	

Análise 72: Comparação do tempo resfriamento-IA de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor

Teste Estatístico	Z	S	P
Wilcoxon	-0,514881	22109,5	0,6066

Análise de variância

Tratamento	N	Média	EP	Mínimo	Máximo	P
D1	143	14,09419580	0,09336716	12,10000000	16,80000000	0,5963
D2	171	14,16140351	0,08566795	12,02000000	16,87000000	

Análise 73: Comparação do tempo coleta-IA de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor

Teste Estatístico	Z	S	P
Wilcoxon	-0,420012	22185,5	0,6745

Análise de variância						
Tratamento	N	Média	EP	Mínimo	Máximo	P
D1	143	14,52650350	0,09152140	12,55000000	17,25000000	0,6692
D2	171	14,57988304	0,08467827	12,56000000	17,32000000	

Análise 74: Comparação do número de IA/ciclo de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor

Teste Estatístico	Z	S	P
Wilcoxon	-1,08746	6653,5	0,2768

Análise de variância						
Tratamento	N	Média	EP	Mínimo	Máximo	P
D1	81	1,76543210	0,06636879	1,00000000	3,00000000	0,1879
D2	90	1,90000000	0,07586373	1,00000000	4,00000000	

Análise 75: Comparação do número de IA/ciclo positivo de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor

Teste Estatístico	Z	S	P
Wilcoxon	0,973431	2784,00	0,3303

Análise de variância						
Tratamento	N	Média	EP	Mínimo	Máximo	P
D1	55	1,83636364	0,08108538	1,00000000	3,00000000	0,2661
D2	50	1,98000000	0,10097484	1,00000000	3,00000000	

Análise 76: Comparação do número de IA/ciclo negativo de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor

Teste Estatístico	Z	S	P
Wilcoxon	-0,919154	808,00	0,3580

Análise de variância						
Tratamento	N	Média	EP	Mínimo	Máximo	P
D1	26	1,61538462	0,11200169	1,00000000	3,00000000	0,2767
D2	40	1,80000000	0,11435437	1,00000000	3,00000000	

Análise 77: Comparação do número de ciclos por égua gestante de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor

Teste Estatístico	Z	S	P
Wilcoxon	1,07939	2781,00	0,2804

Análise de variância						
Tratamento	N	Média	EP	Mínimo	Máximo	P
D1	55	1,36363636	0,10497278	1,00000000	4,00000000	0,3966
D2	50	1,50000000	0,12205720	1,00000000	4,00000000	

Análise 78: Comparação da eficiência de prenhez de acordo com o diluidor, independentemente do reprodutor

Teste Estatístico	Z	S	P
Wilcoxon	1,94749	7547,00	0,0515

Análise de variância						
Tratamento	N	Média	EP	Mínimo	Máximo	P
D1	81	6,29629630	0,50443846	0	10,00000000	0,0682
D2	90	5,00000000	0,49289585	0	10,00000000	

7.7. Análises estatísticas referentes à tabela 4.7

Análise 79: Comparação da taxa de gestação ao primeiro ciclo de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor

Frequência	J1	J2	J3	Total
Positivo	30	28	19	77
Negativo	15	12	18	45
Total	45	40	37	122

Teste Estatístico	Valor	Grau de Liberdade	Probabilidade
Qui-Quadrado	3,258	02	0,196

Análise 80: Comparação da taxa de gestação ao segundo ciclo de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor

Frequência	J1	J2	J3	Total
Positivo	4	6	6	16
Negativo	6	3	6	15
Total	10	9	12	31

Teste Estatístico	Valor	Grau de Liberdade	Probabilidade
Qui-Quadrado	1,369	02	0,504

Análise 81: Comparação da taxa de gestação ao terceiro ciclo de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor

Frequência	J1	J2	J3	Total
Positivo	2	2	3	7
Negativo	3	1	2	6
Total	5	3	5	13

Teste Estatístico	Valor	Grau de Liberdade	Probabilidade
Qui-Quadrado	0,660	02	0,719

Análise 82: Comparação da taxa de gestação por ciclo de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor

Frequência	J1	J2	J3	Total
Positivo	39	36	30	105
Negativo	24	16	26	66
Total	63	52	56	171

Teste Estatístico	Valor	Grau de Liberdade	Probabilidade
Qui-Quadrado	2,800	02	0,247

Análise 83: Comparação da taxa de gestação total de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor

Frequência	J1	J2	J3	Total
Positivo	39	36	30	105
Negativo	6	4	7	17
Total	45	40	37	122

Teste Estatístico	Valor	Grau de Liberdade	Probabilidade
Qui-Quadrado	1,296	02	0,523

7.8. Análises estatísticas referentes à tabela 4.8

Análise 84: Comparação do número de ciclos por égua de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	1,3567	0,5075

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	121	75,31967213			
Modelo	02	0,87642889	0,43821444	0,70	0,4984
Erro	119	74,44324324	0,62557347		
Coeficiente de Variação: 56,42907					

Análise 85: Comparação da idade das éguas de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	1,4877	0,4753

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	170	3194,16081871			
Modelo	02	26,27826377	13,13913188	0,70	0,4996
Erro	168	3167,88255495	18,85644378		
Coeficiente de Variação: 47,34144					

Análise 86: Comparação do volume de sêmen por dose inseminante de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	221,46	0,0001

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
Wilcoxon ($p < 0,05$)	c	b	a

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	2310,64624586			
Modelo	02	1455,52756641	727,76378321	264,68	0,0001
Erro	311	855,11867945	2,74957775		
Coeficiente de Variação: 35,12583					

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
SNK (p<0,05)	c	b	a

Análise 87: Comparação do volume de diluidor por dose inseminante de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	221,46	0,0001

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
Wilcoxon (p<0,05)	a	b	c

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	2310,64624586			
Modelo	02	1455,52756641	727,76378321	264,68	0,0001
Erro	311	855,11867945	2,74957775		
Coeficiente de Variação: 10,85249					

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
SNK (p<0,05)	a	b	c

Análise 88: Comparação da concentração espermática à IA de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	7,2984	0,0260

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
Wilcoxon (p<0,05)	b	a	a

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	581700,47748532			
Modelo	02	9361,85388839	4680,92694420	2,54	0,0802
Erro	311	572338,62359692	1840,31711767		
Coeficiente de Variação: 12,33023					

Análise 89: Comparação da motilidade espermática à IA de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	8,6582	0,0132

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
Wilcoxon ($p < 0,05$)	ab	a	b

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	3,73897759			
Modelo	02	0,15747081	0,07873541	6,84	0,0012
Erro	311	3,58150678	0,01151610		
Coeficiente de Variação: 9,945826					

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
SNK ($p < 0,05$)	a	a	b

Análise 90: Comparação do vigor espermático à IA de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	207,07	0,0001

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
Wilcoxon ($p < 0,05$)	c	a	b

Análise 91: Comparação do tempo coleta-diluição do sêmen de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	4,9377	0,0847

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	5882,49681529			
Modelo	02	35,27405234	17,63702617	0,94	0,3925
Erro	311	5847,22276295	18,80135937		
Coeficiente de Variação: 23,43409					

Análise 92: Comparação do tempo coleta-resfriamento do sêmen de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	28,898	0,0001

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
Wilcoxon ($p < 0,05$)	a	b	b

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	10805,09554140			
Modelo	02	858,61893230	429,30946615	13,42	0,0001
Erro	311	9946,47660911	31,98223990		
Coeficiente de Variação: 22,23590					

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
SNK ($p < 0,05$)	a	b	b

Análise 93: Comparação do tempo coleta-abertura do contêiner de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	4,0390	0,1327

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	366,68688535			
Modelo	02	6,01414503	3,00707251	2,59	0,0764
Erro	311	360,67274032	1,15971942		
Coeficiente de Variação: 7,495898					

Análise 94: Comparação do tempo resfriamento-IA de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	4,4455	0,1083

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	390,71250096			
Modelo	02	7,68821227	3,84410614	3,12	0,0455
Erro	311	383,02428868	1,23158935		
Coeficiente de Variação: 7,68821227					

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
SNK ($p < 0,05$)	a	ab	b

Análise 95: Comparação do tempo coleta-IA de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	6,3446	0,0419

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
Wilcoxon ($p < 0,05$)	a	a	b

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	378,75214682			
Modelo	02	10,26812779	5,13406389	4,33	0,0139
Erro	311	368,48401903	1,18483607		
Coeficiente de Variação: 7,478247					

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	J1	J2	J3
SNK ($p < 0,05$)	a	ab	b

Análise 96: Comparação do número de IA/ciclo de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor

Teste Estatístico	GL	Valor de χ^2	P
Kruskal-Wallis	02	4,1944	0,1228

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	170	75,41520468			
Modelo	02	2,18107769	1,09053885	2,50	0,0850
Erro	168	73,23412698	0,43591742		
Coeficiente de Variação: 35,95577					

Análise 97: Comparação do número de IA/ciclo positivo de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor

Teste Estatístico	GL	Valor de χ^2	P
Kruskal-Wallis	02	1,1849	0,5530

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	104	45,04761905			
Modelo	02	0,58095238	0,29047619	0,67	0,5158
Erro	102	44,46666667	0,43594771		
Coeficiente de Variação: 34,66383					

Análise 98: Comparação do número de IA/ciclo negativo de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor

Teste Estatístico	GL	Valor de χ^2	P
Kruskal-Wallis	02	3,4322	0,1798

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	65	29,09090909			
Modelo	02	2,04122960	1,02061480	2,38	0,1011
Erro	63	27,04967949	0,42935999		
Coeficiente de Variação: 37,93585					

Análise 99: Comparação do número de ciclos por égua gestante de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	2,2637	0,3224

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	104	69,71428571			
Modelo	02	1,70231990	0,85115995	1,28	0,2834
Erro	102	68,01196581	0,66678398		
Coeficiente de Variação: 57,15979					

Análise 100: Comparação da eficiência de prenhez de acordo com o reprodutor, independentemente do diluidor

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	4,4362	0,1088

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	170	3666,52631579			
Modelo	02	89,85720712	44,92860356	2,11	0,1244
Erro	168	3576,66910867	21,28969708		
Coeficiente de Variação: 82,18823					

7.9. Análises estatísticas referentes à tabela 4.9

Análise 101: Comparação da taxa de gestação ao primeiro ciclo de acordo com a idade das fêmeas equinas

Frequência	2,5 a 5 anos	6 a 10 anos	11 a 14 anos	≥ 15 anos	Total
Positivo	15	30	19	13	77
Negativo	13	13	13	6	45
Total	28	43	32	19	122

Teste Estatístico	Valor	Grau de Liberdade	Probabilidade
Qui-Quadrado	2,335	03	0,506

Análise 102: Comparação da taxa de gestação ao segundo ciclo de acordo com a idade das fêmeas equinas

Frequência	2,5 a 5 anos	6 a 10 anos	11 a 14 anos	≥ 15 anos	Total
Positivo	6	5	3	2	16
Negativo	3	4	6	2	15
Total	9	9	9	4	31

Teste Estatístico	Valor	Grau de Liberdade	Probabilidade
Qui-Quadrado	2,081	03	0,556

Análise 103: Comparação da taxa de gestação ao terceiro ciclo de acordo com a idade das fêmeas equinas

Frequência	2,5 a 5 anos	6 a 10 anos	11 a 14 anos	≥ 15 anos	Total
Positivo	1	3	2	1	7
Negativo	1	1	4	0	6
Total	2	4	6	1	13

Teste Estatístico	Valor	Grau de Liberdade	Probabilidade
Qui-Quadrado	2,605	03	0,457

Análise 104: Comparação da taxa de gestação por ciclo de acordo com a idade das fêmeas equinas

Frequência	2,5 a 5 anos	6 a 10 anos	11 a 14 anos	≥ 15 anos	Total
Positivo	23	39	27	16	105
Negativo	17	18	23	8	66
Total	40	57	50	24	171

Teste Estatístico	Valor	Grau de Liberdade	Probabilidade
Qui-Quadrado	2,879	03	0,411

7.10. Análises estatísticas referentes à tabela 4.10

Análise 105: Comparação da taxa de gestação total ao primeiro ciclo de acordo com a idade das fêmeas equinas

Frequência	2,5 a 5 anos	6 a 10 anos	11 a 14 anos	≥ 15 anos	Total
Positivo	15	30	19	13	77
Negativo	4	4	4	2	14
Total	19	34	23	15	91

Teste Estatístico	Valor	Grau de Liberdade	Probabilidade
Qui-Quadrado	0,931	03	0,818

Análise 106: Comparação da taxa de gestação total ao segundo ciclo de acordo com a idade das fêmeas equinas

Frequência	2,5 a 5 anos	6 a 10 anos	11 a 14 anos	≥ 15 anos	Total
Positivo	6	5	3	2	16
Negativo	1	0	0	1	2
Total	7	5	3	3	18

Teste Estatístico	Valor	Grau de Liberdade	Probabilidade
Qui-Quadrado	2,571	03	0,463

Análise 107: Comparação da taxa de gestação total ao terceiro ciclo de acordo com a idade das fêmeas equinas

Frequência	2,5 a 5 anos	6 a 10 anos	11 a 14 anos	≥ 15 anos	Total
Positivo	1	3	2	1	7
Negativo	0	0	1	0	1
Total	1	3	3	1	8

Teste Estatístico	Valor	Grau de Liberdade	Probabilidade
Qui-Quadrado	1,905	03	0,592

Análise 108: Comparação da taxa de gestação total de acordo com a idade das fêmeas equinas

Frequência	2,5 a 5 anos	6 a 10 anos	11 a 14 anos	≥ 15 anos	Total
Positivo	23	39	27	16	105
Negativo	5	4	5	3	17
Total	28	43	32	19	122

Teste Estatístico	Valor	Grau de Liberdade	Probabilidade
Qui-Quadrado	1,259	03	0,739

7.11. Análises estatísticas referentes à tabela 4.11

Análise 109: Comparação do número de ciclos por égua de acordo com a idade das fêmeas equinas

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	1,4862	0,6855

Análise de variância

Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	121	75,31967213			
Modelo	03	1,46145828	0,48715276	0,78	0,5083
Erro	118	73,31967213	0,62591707		

Coeficiente de Variação: 56,44456

Análise 110: Comparação do volume de sêmen por dose inseminante de acordo com a idade das fêmeas equinas

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	5,6252	0,1313

Análise de variância

Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	2310,64624586			
Modelo	03	39,94538509	13,31512836	1,82	0,1438
Erro	310	2270,64624586	7,32484149		

Coeficiente de Variação: 57,33141

Análise 111: Comparação do volume de diluidor por dose inseminante de acordo com a idade das fêmeas equinas

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	5,6252	0,1313

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	2310,64624586			
Modelo	03	39,94538509	13,31512836	1,82	0,1438
Erro	310	2270,64624586	7,32484149		
Coeficiente de Variação: 17,71314					

Análise 112: Comparação da concentração espermática à IA de acordo com a idade das fêmeas equinas

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	3,0121	0,3898

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	581700,47748540			
Modelo	03	9156,83568273	3052,27856091	1,65	0,1773
Erro	310	572543,64180266	1846,91497356		
Coeficiente de Variação: 12,35231					

Análise 113: Comparação da motilidade espermática à IA de acordo com a idade das fêmeas equinas

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	6,1066	0,1065

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	3,73897759			
Modelo	03	0,06466628	0,02155543	1,82	0,1437
Erro	310	3,67431131	0,01185262		
Coeficiente de Variação: 10,09010					

Análise 114: Comparação do vigor espermático à IA de acordo com a idade das fêmeas equinas

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	2,6855	0,4427

Análise 115: Comparação do tempo coleta-diluição do sêmen de acordo com a idade das fêmeas equinas

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	8,5961	0,0352

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste			
	2,5 a 5 anos	6 a 10 anos	11 a 14 anos	≥ 15 anos
Wilcoxon(p<0,05)	b	b	b	a

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	5882,49681529			
Modelo	03	198,02884868	66,00961623	3,60	0,0139
Erro	310	5684,46796660	18,33699344		
Coeficiente de Variação: 23,14289					

Análise 116: Comparação do tempo coleta-resfriamento do sêmen de acordo com a idade das fêmeas equinas

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	7,6433	0,0540

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste			
	2,5 a 5 anos	6 a 10 anos	11 a 14 anos	≥ 15 anos
Wilcoxon(p=0,0540)	ab	b	b	a

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	10805,09554140			
Modelo	03	331,68110939	110,56036980	3,27	0,0215
Erro	310	10473,41443202	33,78520785		
Coeficiente de Variação: 22,85407					

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste			
	2,5 a 5 anos	6 a 10 anos	11 a 14 anos	≥ 15 anos
SNK (p<0,05)	b	b	b	a

Análise 117: Comparação do tempo coleta-abertura do contêiner de acordo com a idade das fêmeas equinas

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	5,3197	0,1498

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	366,68688535			
Modelo	03	5,99290301	1,99763434	1,72	0,1635
Erro	310	360,69398234	1,16352898		
Coeficiente de Variação: 7,508199					

Análise 118: Comparação do tempo resfriamento-IA de acordo com a idade das fêmeas equinas

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	6,1190	0,1060

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	390,71250096			
Modelo	03	7,61974758	2,53991586	2,06	0,1061
Erro	310	383,71250096	1,23578308		
Coeficiente de Variação: 7,866916					

Análise 119: Comparação do tempo coleta-IA de acordo com a idade das fêmeas equinas

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	4,8614	0,1822

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	378,75214682			
Modelo	03	5,88862484	1,96287495	1,63	0,1819
Erro	310	372,86352198	1,20278555		
Coeficiente de Variação: 7,534680					

Análise 120: Comparação do número de IA/ciclo de acordo com a idade das fêmeas equinas

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	6,8232	0,0778

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	170	75,41520468			
Modelo	03	3,32467836	1,10822612	2,57	0,0562
Erro	167	72,09052632	0,43167980		
Coeficiente de Variação: 35,78058					

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste			
	2,5 a 5 anos	6 a 10 anos	11 a 14 anos	≥ 15 anos
SNK (p=0,0562)	ab	ab	a	b

Análise 121: Comparação do número de IA/ciclo positivo de acordo com a idade das fêmeas equinas

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	4,2224	0,2384

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	104	45,04761905			
Modelo	03	1,97578237	0,65859412	1,54	0,2077
Erro	101	43,07183668	0,42645383		
Coeficiente de Variação: 34,28430					

Análise 122: Comparação do número de IA/ciclo negativo de acordo com a idade das fêmeas equinas

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	3,6422	0,3028

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	65	29,09090909			
Modelo	03	1,86041037	0,62013679	1,41	0,2478
Erro	62	27,23049872	0,43920159		
Coeficiente de Variação: 38,36817					

Análise 123: Comparação do número de ciclos por égua gestante de acordo com a idade das fêmeas equinas

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	1,6654	0,6447

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	104	69,71428571			
Modelo	03	1,48227779	0,49409260	0,73	0,5356
Erro	101	68,23200793	0,67556443		
Coeficiente de Variação: 57,53491					

Análise 124: Comparação da eficiência de prenhez de acordo com a idade das fêmeas equinas

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	4,0937	0,2515

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	170	3666,52631579			
Modelo	03	86,69052632	28,89684211	1,35	0,2606
Erro	167	3579,83578947	21,43614245		
Coeficiente de Variação: 82,47042					

7.12. Análises estatísticas referentes à tabela 4.12

Análise 125: Comparação da taxa de gestação ao primeiro ciclo de acordo com a categoria reprodutiva

Frequência	Potra	Égua solteira	Égua parida	Égua no “cio do potro”	Total
Positivo	11	40	9	17	77
Negativo	8	18	12	7	45
Total	19	58	21	24	122

Teste Estatístico	Valor	Grau de Liberdade	Probabilidade
Qui-Quadrado	5,391	03	0,145

Análise 126: Comparação da taxa de gestação ao segundo ciclo de acordo com a categoria reprodutiva

Frequência	Potra	Égua solteira	Égua parida	Égua no “cio do potro”	Total
Positivo	3	8	5	---	16
Negativo	3	8	4	---	15
Total	6	16	9	---	31

Teste Estatístico	Valor	Grau de Liberdade	Probabilidade
Qui-Quadrado	0,079	02	0,961

Análise 127: Comparação da taxa de gestação ao terceiro ciclo de acordo com a categoria reprodutiva

Frequência	Potra	Égua solteira	Égua parida	Égua no “cio do potro”	Total
Positivo	1	5	1	---	7
Negativo	1	3	2	---	6
Total	2	8	3	---	13

Teste Estatístico	Valor	Grau de Liberdade	Probabilidade
Qui-Quadrado	0,761	02	0,684

Análise 128: Comparação da taxa de gestação por ciclo de acordo com a categoria reprodutiva

Frequência	Potra	Égua solteira	Égua parida	Égua no “cio do potro”	Total
Positivo	16	56	16	17	105
Negativo	12	29	18	7	66
Total	28	85	34	24	171

Teste Estatístico	Valor	Grau de Liberdade	Probabilidade
Qui-Quadrado	4,786	03	0,188

7.13. Análises estatísticas referentes à tabela 4.13

Análise 129: Comparação do número de ciclos por égua de acordo com a categoria reprodutiva

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	2,4640	0,4818

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	121	75,31967213			
Modelo	03	1,24108126	0,41369375	0,66	0,5789
Erro	118	74,07859087	0,62778467		
Coeficiente de Variação: 56,52871					

Análise 130: Comparação das idades das éguas de acordo com a categoria reprodutiva

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	72,203	0,0001

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste			
	Potra	Égua solteira	Égua parida	Égua no “cio do potro”
Wilcoxon (p=0,0570)	c	ab	b	a

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	170	3194,16081871			
Modelo	03	1309,77925359	436,59308453	38,69	0,0001
Erro	167	1884,38156513	11,28372195		
Coeficiente de Variação: 36,62164					

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste			
	Potra	Égua solteira	Égua parida	Égua no “cio do potro”
SNK (p=0,0570)	c	ab	b	a

Análise 131: Comparação do volume de sêmen por dose inseminante de acordo com a categoria reprodutiva

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	0,18501	0,9800

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	2310,64624586			
Modelo	03	0,81816056	0,27272019	0,04	0,9906
Erro	310	2309,82808530	7,45105834		
Coeficiente de Variação: 57,82325					

Análise 132: Comparação do volume de diluidor por dose inseminante de acordo com a categoria reprodutiva

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	0,18501	0,9800

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	2310,64624586			
Modelo	03	0,81816056	0,27272019	0,04	0,9906
Erro	310	2309,82808530	7,45105834		
Coeficiente de Variação: 17,86510					

Análise 133: Comparação da concentração espermática à IA de acordo com a categoria reprodutiva

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	3,7598	0,2886

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	581700,47748541			
Modelo	03	3360,89127146	1120,29709049	0,60	0,6151
Erro	310	578339,58621395	1865,61156843		
Coeficiente de Variação: 12,41468					

Análise 134: Comparação da motilidade espermática à IA de acordo com a categoria reprodutiva

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	2,2104	0,5299

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	3,73897759			
Modelo	03	0,01044592	0,00348197	0,29	0,8330
Erro	310	3,72853167	0,01202752		
Coeficiente de Variação: 10,16427					

Análise 135: Comparação do vigor espermático à IA de acordo com a categoria reprodutiva

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	2,6361	0,4512

Análise 136: Comparação do tempo coleta-diluição do sêmen de acordo com a categoria reprodutiva

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	5,5614	0,1350

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	5882,49681529			
Modelo	03	60,28483132	20,09494377	1,07	0,3620
Erro	310	5822,49681529	18,78132898		
Coeficiente de Variação: 23,42161					

Análise 137: Comparação do tempo coleta-resfriamento do sêmen de acordo com a categoria reprodutiva

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	3,9100	0,2713

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	10805,09554140			
Modelo	03	105,75529927	35,25176642	1,02	0,3834
Erro	310	10699,34024213	34,51400078		
Coeficiente de Variação: 23,09926					

Análise 138: Comparação do tempo coleta-abertura do contêiner de acordo com a categoria reprodutiva

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	11,334	0,0100

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste			
	Potra	Égua solteira	Égua parida	Égua no “cio do potro”
Wilcoxon(p<0,05)	ab	b	a	b

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	366,68688535			
Modelo	03	12,24241910	4,08080637	3,57	0,0145
Erro	310	354,44446625	1,14336925		
Coeficiente de Variação: 7,442870					

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste			
	Potra	Égua solteira	Égua parida	Égua no “cio do potro”
SNK (p<0,05)	b	b	a	b

Análise 139: Comparação do tempo resfriamento-IA de acordo com a categoria reprodutiva

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	10,653	0,0138

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste			
	Potra	Égua solteira	Égua parida	Égua no “cio do potro”
Wilcoxon(p<0,05)	ab	b	a	b

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	390,71250096			
Modelo	03	11,60179119	3,86726373	3,16	0,0249
Erro	310	379,11070977	1,22293777		
Coeficiente de Variação: 7,825923					

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste			
	Potra	Égua solteira	Égua parida	Égua no “cio do potro”
SNK (p<0,05)	b	b	a	b

Análise 140: Comparação do tempo coleta-IA de acordo com a categoria reprodutiva

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	9,6890	0,0214

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste			
	Potra	Égua solteira	Égua parida	Égua no “cio do potro”
Wilcoxon(p<0,05)	ab	b	a	b

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	378,75214682			
Modelo	03	10,11660267	3,37220089	2,84	0,0383
Erro	310	368,63554415	1,18914692		
Coeficiente de Variação: 7,491839					

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste			
	Potra	Égua solteira	Égua parida	Égua no “cio do potro”
SNK (p<0,05)	ab	ab	a	b

Análise 141: Comparação do número de IA/ciclo de acordo com a categoria reprodutiva

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	3,1116	0,3747

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	170	75,41520468			
Modelo	03	1,23747359	0,41249120	0,93	0,4283
Erro	167	74,41520468	0,44417803		
Coeficiente de Variação: 36,29485					

Análise 142: Comparação do número de IA/ciclo positivo de acordo com a categoria reprodutiva

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	2,2972	0,5130

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	104	45,04761905			
Modelo	03	0,95465686	0,31821895	0,73	0,5371
Erro	101	44,09296218	0,43656398		
Coeficiente de Variação: 34,68832					

Análise 143: Comparação do número de IA/ciclo negativo de acordo com a categoria reprodutiva

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	1,2534	0,7402

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	65	29,09090909			
Modelo	03	0,36020302	0,12006767	0,26	0,8546
Erro	62	28,73070608	0,46339849		
Coeficiente de Variação: 39,41090					

Análise 144: Comparação da eficiência de prenhez de acordo com a categoria reprodutiva

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	8,6546	0,0343

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste			
	Potra	Égua solteira	Égua parida	Égua no “cio do potro”
Wilcoxon(p<0,05)	a	a	b	a

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	170	3666,52631579			
Modelo	03	143,92323456	47,97441152	2,27	0,0818
Erro	167	3522,60308123	21,09343162		
Coeficiente de Variação: 81,80851					

7.14. Análises estatísticas referentes à tabela 4.15

Análise 145: Comparação da taxa de gestação ao primeiro ciclo de acordo com o intervalo IA-ovulação

Frequência	24P	48P	48PP	72PP	Total
Positivo	29	12	32	4	77
Negativo	15	10	16	4	45
Total	44	22	48	8	122

Teste Estatístico	Valor	Grau de Liberdade	Probabilidade
Qui-Quadrado	1,693	03	0,639

Análise 146: Comparação da taxa de gestação ao segundo ciclo de acordo com o intervalo IA-ovulação

Frequência	24P	48P	48PP	72PP	Total
Positivo	3	4	7	2	16
Negativo	4	3	5	3	15
Total	7	7	12	5	31

Teste Estatístico	Valor	Grau de Liberdade	Probabilidade
Qui-Quadrado	0,788	03	0,852

Análise 147: Comparação da taxa de gestação ao terceiro ciclo de acordo com o intervalo IA-ovulação

Frequência	24P	48P	48PP	72PP	Total
Positivo	0	2	3	2	7
Negativo	2	3	0	1	6
Total	2	5	3	3	13

Teste Estatístico	Valor	Grau de Liberdade	Probabilidade
Qui-Quadrado	5,489	03	0,139

Análise 148: Comparação da taxa de gestação por ciclo de acordo com o intervalo IA-ovulação

Frequência	24P	48P	48PP	72PP	Total
Positivo	35	19	43	8	105
Negativo	21	16	21	8	66
Total	56	35	64	16	171

Teste Estatístico	Valor	Grau de Liberdade	Probabilidade
Qui-Quadrado	2,558	03	0,465

7.15. Análises estatísticas referentes à tabela 4.16

Análise 149: Comparação do número de ciclos de acordo com o intervalo IA-ovulação

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	2,0766	0,5567

Análise de variância

Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	121	75,31967213			
Modelo	03	0,97118728	0,32372909	0,51	0,6736
Erro	118	74,34848485	0,63007191		
Coeficiente de Variação: 56,63159					

Análise 150: Comparação da idade das éguas de acordo com o intervalo IA-ovulação

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	1,4445	0,6951

Análise de variância

Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	170	3194,16081871			
Modelo	03	23,64642139	7,88214046	0,42	0,7423
Erro	167	3170,51439732	18,98511615		
Coeficiente de Variação: 47,50269					

Análise 151: Comparação do volume de sêmen por dose inseminante de acordo com o intervalo IA-ovulação

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	3,4291	0,3301

Análise de variância

Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	2310,64624586			
Modelo	03	16,27089984	5,42363328	0,73	0,5331
Erro	310	2294,37534601	7,40121079		
Coeficiente de Variação: 57,62951					

Análise 152: Comparação do volume de diluidor por dose inseminante de acordo com o intervalo IA-ovulação

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	3,4291	0,3301

Análise de variância

Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	2310,64624586			
Modelo	03	16,27089984	5,42363328	0,73	0,5331
Erro	310	2294,37534601	7,40121079		
Coeficiente de Variação: 17,80524					

Análise 153: Comparação da concentração espermática à IA de acordo com o intervalo IA-ovulação

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	2,9114	0,4055

Análise de variância

Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	581700,47748544			
Modelo	03	7456,93800668	2485,64600223	1,34	0,2608
Erro	310	574243,53947876	1852,39851445		
Coeficiente de Variação: 12,37064					

Análise 154: Comparação da motilidade espermática à IA de acordo com o intervalo IA-ovulação

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	1,0944	0,7784

Análise de variância

Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	3,73897759			
Modelo	03	0,02270210	0,00756737	0,63	0,5953
Erro	310	3,71627549	0,01198799		
Coeficiente de Variação: 9,971450					

Análise 155: Comparação do vigor espermático à IA de acordo com o intervalo IA-ovulação

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	7,5214	0,0570

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste			
	24P	48P	48PP	72PP
Wilcoxon (p=0,0570)	ab	ab	a	b

Análise 156: Comparação do tempo coleta-diluição do sêmen de acordo com o intervalo IA-ovulação

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	2,0867	0,5546

Análise de variância

Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	5882,49681529			
Modelo	03	34,16239012	11,38746337	0,60	0,6131
Erro	310	5848,33442516	18,86559492		
Coeficiente de Variação: 23,47409					

Análise 157: Comparação do tempo coleta-resfriamento do sêmen de acordo com o intervalo IA-ovulação

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	3,2546	0,3540

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	10805,09554140			
Modelo	03	120,28226973	40,09408991	1,16	0,3239
Erro	310	10684,81327167	34,46713959		
Coeficiente de Variação: 23,08357					

Análise 158: Comparação do tempo coleta-abertura do contêiner de acordo com o intervalo IA-ovulação

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	11,572	0,0090

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste			
	24P	48P	48PP	72PP
Wilcoxon(p<0,05)	b	b	a	a

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	366,68688535			
Modelo	03	13,71929441	4,57309814	4,02	0,0080
Erro	310	352,96759094	1,13860513		
Coeficiente de Variação: 7,427348					

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste			
	24P	48P	48PP	72PP
SNK (p<0,05)	bc	c	ab	a

Análise 159: Comparação do tempo resfriamento-IA de acordo com o intervalo IA-ovulação

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	10,384	0,0156

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste			
	24P	48P	48PP	72PP
Wilcoxon(p<0,05)	b	b	a	a

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	390,71250096			
Modelo	03	13,37819249	4,45939750	3,66	0,0128
Erro	310	377,33430847	1,21720745		
Coeficiente de Variação: 7,807566					

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste			
	24P	48P	48PP	72PP
SNK (p<0,05)	ab	b	ab	a

Análise 160: Comparação do tempo coleta-IA de acordo com o intervalo IA-ovulação

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	03	10,192	0,0170

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste			
	24P	48P	48PP	72PP
Wilcoxon(p<0,05)	b	b	a	a

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	378,75214682			
Modelo	03	12,60977220	4,20325740	3,56	0,0147
Erro	310	366,75214682	1,18110443		
Coeficiente de Variação: 7,466462					

Análise 161: Comparação do número de IA/ciclo de acordo com o intervalo IA-ovulação

Teste Estatístico	GL	Valor de χ^2	P
Kruskal-Wallis	03	76,831	0,0001

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste			
	24P	48P	48PP	72PP
Wilcoxon(p<0,05)	b	c	a	a

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	170	75,41520468			
Modelo	03	30,18484754	10,06161585	37,15	0,0001
Erro	167	45,23035714	0,27084046		
Coeficiente de Variação: 28,34153					

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste			
	24P	48P	48PP	72PP
SNK (p<0,05)	b	c	a	a

Análise 162: Comparação do número de IA/ciclo positivo de acordo com o intervalo IA-ovulação

Teste Estatístico	GL	Valor de χ^2	P
Kruskal-Wallis	03	41,905	0,0001

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste			
	24P	48P	48PP	72PP
Wilcoxon(p<0,05)	b	c	a	ab

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	104	45,04761905			
Modelo	03	16,37545608	5,45848536	19,23	0,0001
Erro	101	28,67216297	0,28388280		
Coeficiente de Variação: 27,97234					

Análise 163: Comparação do número de IA/ciclo negativo de acordo com o intervalo IA-ovulação

Teste Estatístico	GL	Valor de χ^2	P
Kruskal-Wallis	03	33,910	0,0001

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste			
	24P	48P	48PP	72PP
Wilcoxon(p<0,05)	b	c	a	a

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	65	29,09090909			
Modelo	03	13,51650433	4,50550144	17,94	0,0001
Erro	62	15,57440476	0,25120008		
Coeficiente de Variação: 29,01676					

Análise 164: Comparação da eficiência de prenhez de acordo com o intervalo IA-ovulação

Teste Estatístico	GL	Valor de χ^2	P
Kruskal-Wallis	03	4,5889	0,2045

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	170	3666,52631579			
Modelo	03	78,77453008	26,25817669	1,22	0,3033
Erro	167	3587,75178571	21,48354363		
Coeficiente de Variação: 82,56155					

7.16. Análises estatísticas referentes à tabela 4.18

Análise 165: Comparação da taxa de gestação ao primeiro ciclo de acordo com o número de inseminações artificiais realizadas por ciclo

Frequência	1 IA	2 IA	≥ 3 IA	Total
Positivo	18	51	8	77
Negativo	16	25	4	45
Total	34	76	12	122

Teste Estatístico	Valor	Grau de Liberdade	Probabilidade
Qui-Quadrado	2,097	02	0,351

Análise 166: Comparação da taxa de gestação ao segundo ciclo de acordo com o número de inseminações artificiais realizadas por ciclo

Frequência	1 IA	2 IA	≥ 3 IA	Total
Positivo	7	8	1	16
Negativo	6	8	1	15
Total	13	16	2	31

Teste Estatístico	Valor	Grau de Liberdade	Probabilidade
Qui-Quadrado	0,045	02	0,978

Análise 167: Comparação da taxa de gestação ao terceiro ciclo de acordo com o número de inseminações artificiais realizadas por ciclo

Frequência	1 IA	2 IA	≥ 3 IA	Total
Positivo	2	2	3	7
Negativo	3	2	1	6
Total	5	4	4	13

Teste Estatístico	Valor	Grau de Liberdade	Probabilidade
Qui-Quadrado	1,130	02	0,568

Análise 168: Comparação da taxa de gestação por ciclo de acordo com o número de inseminações artificiais realizadas por ciclo

Frequência	1 IA	2 IA	≥ 3 IA	Total
Positivo	27	62	16	105
Negativo	25	35	6	66
Total	52	97	22	171

Teste Estatístico	Valor	Grau de Liberdade	Probabilidade
Qui-Quadrado	3,421	02	0,181

7.17. Análises estatísticas referentes à tabela 4.19

Análise 169: Comparação do número de ciclos de acordo com o número de inseminações artificiais realizadas por ciclo

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	2,4099	0,2997

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	121	75,31967213			
Modelo	02	1,24820670	0,62410335	1,00	0,3700
Erro	119	74,31967213	0,62244929		
Coeficiente de Variação: 56,28799					

Análise 170: Comparação da idade das éguas de acordo com o número de inseminações artificiais realizadas por ciclo

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	1,8232	0,4019

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	170	3194,16081871			
Modelo	02	29,89539535	14,94769767	0,79	0,4539
Erro	168	3164,26542337	18,83491323		
Coeficiente de Variação: 47,31441					

Análise 171: Comparação do volume de sêmen por dose inseminante de acordo com o número de inseminações artificiais realizadas por ciclo

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	3,7433	0,1539

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	2310,64624586			
Modelo	02	38,57774072	19,28887036	2,64	0,0729
Erro	311	2272,06850514	7,30568651		
Coeficiente de Variação: 57,25640					

Análise 172: Comparação do volume de diluidor por dose inseminante de acordo com o número de inseminações artificiais realizadas por ciclo

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	3,7433	0,1539

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	2310,64624586			
Modelo	02	38,57774072	19,28887036	2,64	0,0729
Erro	311	2272,06850514	7,30568651		
Coeficiente de Variação: 17,68997					

Análise 173: Comparação da concentração espermática à IA de acordo com o número de inseminações artificiais realizadas por ciclo

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	0,61298	0,7360

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	581700,47748531			
Modelo	02	8348,16595301	4174,08297651	2,26	0,1056
Erro	311	573352,31153230	1843,57656441		
Coeficiente de Variação: 12,34115					

Análise 174: Comparação da motilidade espermática à IA de acordo com o número de inseminações artificiais realizadas por ciclo

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	3,6990	0,1573

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	3,73897759			
Modelo	02	0,06933339	0,03466669	2,94	0,0544
Erro	311	3,73897759	0,01179950		
Coeficiente de Variação: 10,06746					

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	1 IA	2 IA	≥ 3 IA
SNK (p=0,0544)	b	ab	a

Análise 175: Comparação do vigor espermático à IA de acordo com o número de inseminações artificiais realizadas por ciclo

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	0,32380	0,8505

Análise 176: Comparação do tempo coleta-diluição do sêmen de acordo com o número de inseminações artificiais realizadas por ciclo

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	3,8910	0,1429

Análise de variância

Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	5882,49681529			
Modelo	02	63,06148152	31,53074076	1,69	0,1871
Erro	311	5819,43533377	18,71201072		
Coeficiente de Variação: 23,37834					

Análise 177: Comparação do tempo coleta-resfriamento do sêmen de acordo com o número de inseminações artificiais realizadas por ciclo

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	5,9247	0,0517

Análise de variância

Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	10805,09554140			
Modelo	02	174,71180067	87,35590034	2,56	0,0793
Erro	311	10630,38374073	34,18129820		
Coeficiente de Variação: 22,98765					

Análise 178: Comparação do tempo coleta-abertura do contêiner de acordo com o número de inseminações artificiais realizadas por ciclo

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	15,149	0,0005

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	1 IA	2 IA	≥ 3 IA
Wilcoxon (p<0,05)	b	a	a

Análise de variância

Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	366,68688535			
Modelo	02	17,62961206	8,81480603	7,85	0,0005
Erro	311	349,05727329	1,12237065		
Coeficiente de Variação: 7,374207					

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	1 IA	2 IA	≥ 3 IA
SNK (p<0,05)	b	a	a

Análise 179: Comparação do tempo resfriamento-IA de acordo com o número de inseminações artificiais realizadas por ciclo

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	14,278	0,0008

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	1 IA	2 IA	≥ 3 IA
Wilcoxon ($p < 0,05$)	b	a	a

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	390,71250096			
Modelo	02	17,69940384	8,84970192	7,38	0,0007
Erro	311	373,01309712	1,19939903		
Coeficiente de Variação: 7,750241					

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	1 IA	2 IA	≥ 3 IA
SNK ($p < 0,05$)	b	a	a

Análise 180: Comparação do tempo coleta-IA de acordo com o número de inseminações artificiais realizadas por ciclo

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	12,970	0,0015

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	1 IA	2 IA	≥ 3 IA
Wilcoxon ($p < 0,05$)	b	a	a

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	313	378,75214682			
Modelo	02	15,71704161	7,85852080	6,73	0,0014
Erro	311	363,03510521	1,16731545		
Coeficiente de Variação: 7,422749					

Teste Estatístico	Agrupamento pelo Teste		
	1 IA	2 IA	≥ 3 IA
SNK ($p < 0,05$)	b	a	a

Análise 181: Comparação da eficiência de prenhez de acordo com o número de inseminações artificiais realizadas por ciclo

Teste Estatístico	GL	Valor de x^2	P
Kruskal-Wallis	02	3,5653	0,1682

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Total	170	3666,52631579			
Modelo	02	58,50079492	29,25039746	1,36	0,2590
Erro	168	3608,02552087	21,47634239		
Coeficiente de Variação: 82,54771					