



UNICEPLAC

Centro Universitário do Planalto Central Aparecido dos Santos - UNICEPLAC

Curso de Medicina Veterinária

Trabalho de Conclusão de Curso

**IMPORTÂNCIA DO EXAME ANDROLÓGICO ASSOCIADO A
MORFOLOGIA ESPERMÁTICA – Revisão de literatura**

Gama - DF

2021



UNICEPLAC

HELBER ARAÚJO BARROS

IMPORTÂNCIA DO EXAME ANDROLÓGICO ASSOCIADO A MORFOLOGIA ESPERMÁTICA – revisão de literatura

Artigo apresentado como requisito para conclusão do curso de Bacharelado em Medicina Veterinária pelo Centro Universitário do Planalto Central Aparecido dos Santos – Uniceplac.

Orientadora: Profa. MSc. Mariane Leão Freitas

Gama - DF

2021



UNICEPLAC

HELBER ARAÚJO BARROS

**IMPORTÂNCIA DO EXAME ANDROLÓGICO
ASSOCIADO A MORFOLOGIA ESPERMÁTICA– Revisão
de literatura**

Artigo apresentado como requisito para
conclusão do curso de Bacharelado em
Medicina Veterinária pelo Centro
Universitário do Planalto Central
Apparecido dos Santos – Uniceplac.

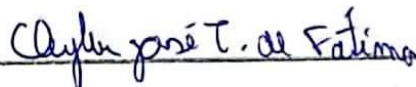
Gama, 06de dezembro de 2021.

Banca Examinadora



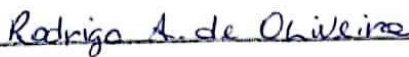
Prof. MSc. Mariane Leão Freitas

Orientador



Prof. MSc. Cleyber José da Trindade de Fátima

Examinador



Prof. Dr. Rodrigo Arruda de Oliveira

Examinador

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer e dedicar esta dissertação as seguintes pessoas:

Minha mãe, meu pai, meus irmãos Aécio e Hertânia. Minha namorada Larissa. Meus amigos Arthur, Pedro e Isabella. Minha orientadora Mariane.

RESUMO

A equideocultura cresceu em média 12% ao ano nos últimos 10 anos, mediante a isso, profissionais que atuam no campo da reprodução equina tiveram que se aperfeiçoar e manter a constante atualização, afim de melhor atender seus clientes. Para que a morfologia espermática seja realizada com qualidade, é necessário ter atenção em alguns pontos, são eles: funcionamento da espermatogênese, durante o exame andrológico, evitando falhas que possam atrapalhar a fertilidade do reprodutor, atentando-se na coleta de sêmen, durante as avaliações imediata e mediata e por último, nos procedimentos necessários para a realização da morfologia. Afim de evitar falhas, e classificar de maneira fidedigna o desempenho reprodutivo do macho.

Palavras-chave: Equideocultura, reprodução equina, morfologia espermática, espermatogênese, exame andrológico, fertilidade, desempenho reprodutivo.

ABSTRACT

The equine culture has grown on average 12% per year in the last 10 years, through this, professionals working in the field of equine reproduction had to improve and keep constantly updated, in order to better serve their customers. In order for the sperm morphology to be performed with quality, it is necessary to pay attention to some points, they are: spermatogenesis functioning, during the andrological examination, avoiding failures that can impair the fertility of the reproducer, paying attention to the semen collection, during the immediate and mediate evaluations and, finally, on the necessary procedures to carry out the morphology. In order to avoid failures, and reliably classify the male's reproductive performance.

Keywords: Equideoculture, equine reproduction, sperm morphology, spermatogenesis, andrological examination, fertility, reproductive performance.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	7
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	8
2.1 ESPERMATOGÊNESE.....	8
2.2 ESTRUTURA DO ESPERMATOZOIDE.....	9
2.3 EXAME ANDROLÓGICO DE GARANHÕES.....	10
2.4 AVALIAÇÃO DA MORFOLOGIA ESPERMÁTICA.....	10
2.4.1 DEFEITOS MAIORES.....	13
2.4.2 DEFEITOS MENORES.....	14
2.5 METODOLOGIA DA MORFOLOGIA.....	14
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	18
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	19

1 INTRODUÇÃO

A equinocultura é responsável por movimentar cerca de 16,5 bilhões de reais por ano, gerando em média 3 milhões de empregos de forma direta e indireta, segundo o levantamento do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento com dados de 2016 (MAPA, 2019). Garanhões, doadoras de embrião, matrizes, potros, venda de sêmen, oócitos e embriões são os produtos gerados e ofertados no mercado interno brasileiro, as principais formas de escoamento dessa produção são através de leilões, exposições, vendas diretas, feiras de animais e redes sociais.

Para melhor entender como funciona o processo reprodutivo, é necessário entender onde ele se inicia e quais são as etapas necessárias. A espermatogênese é o nome destinado a produção de espermatozoides, acontece no parênquima testicular e o tempo para sua realização é de 57 dias, sendo dividida em três fases, espermatocitogênese, espermatogênese e espermiogênese (RUSSELL et al., 1990; JOHNSON et al., 2000; LEITE, 2008).

Seguindo o raciocínio, o exame andrológico é responsável por avaliar o potencial reprodutivo dos machos, examinando e verificando se houve o desenvolvimento completo do aparelho reprodutor, avaliando os principais comportamentos desse macho em relação a fêmea. Logo após o primeiro contato, é realizada a coleta de sêmen, seguida da avaliação imediata, que consiste em avaliar o volume total do ejaculado, aspecto (cor e densidade), odor, motilidade total em porcentagem (0 a 100%) e vigor em uma escala de 0 a 5 (FÜRST et al., 2005; QUEIROZ, 2003; ARAÚJO et al., 2015). Em seguida é realizada a avaliação mediada, que não necessita do movimento do espermatozoide, considerado o estudo estático da célula, fazendo a concentração, integridade de membrana e a morfologia espermática (OLIVEIRA et al., 2019).

Das possíveis avaliações a serem realizadas no sêmen equino, a morfologia espermática tem como intuito avaliar detalhadamente as estruturas anatômicas do espermatozoide, a fim de classificá-lo como normal ou apresentando patologias, de acordo com o potencial de fecundação do espermatozoide a partir da patologia apresentada. O preparo do sêmen para essa avaliação pode ser feito através do esfregaço corado com sêmen fresco ou por meio da preparação úmida (ARRUDA et al., 2011).

Objetivou-se relatar a importância da morfologia espermática, considerado um dos pontos-chaves na avaliação espermática dos garanhões, com o intuito de demonstrar a como a manutenção da estrutura da célula espermática é importante nos resultados obtidos com a

aplicação de biotécnicas da reprodução nesta espécie, e como patologias espermáticas podem interferir na capacidade de fecundação dos espermatozoides equinos.

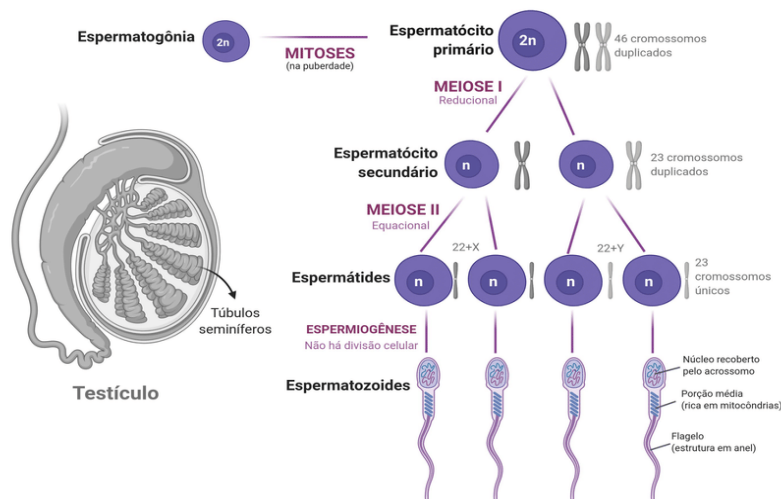
2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ESPERMATOGÊNESE

A espermatogênese acontece nos testículos dos garanhões, mais especificamente dentro dos túbulos seminíferos, e consiste em várias transformações, fazendo com que uma célula diploide se torne uma célula germinativa haploide (Figura 1; KUDRYAVTSEV et al., 2003).

Durante esse período acontece três processos: 1) Espermatocitogênese – consiste em divisões mitóticas das espermatogônias, sendo células diploides que substituirão as células antigas, este processo tem duração média de 19,4 dias (AMMAN, 1993). 2) Espermatogênese – denominada de fase meiótica, sendo a transformação de células diploides para haploides, garantindo a variação genética através da replicação do DNA e pelo crossing over, este processo tem duração média de 19,4 dias (AMMAN, 1993). 3) Espermiogênese- Fase responsável pela transformação morfológica das espermatídes indiferenciadas e arredondadas em espermatozoides (RUSSELL et al., 1990; JOHNSON et al., 2000; LEITE, 2008).

Figura 1 – Espermatogênese



Fonte: Gomes, Ezio & Marques, Giovanna & Nunes, Erika. (2021). *BIOLOGIA GERAL Volume III Histologia e Embriologia*

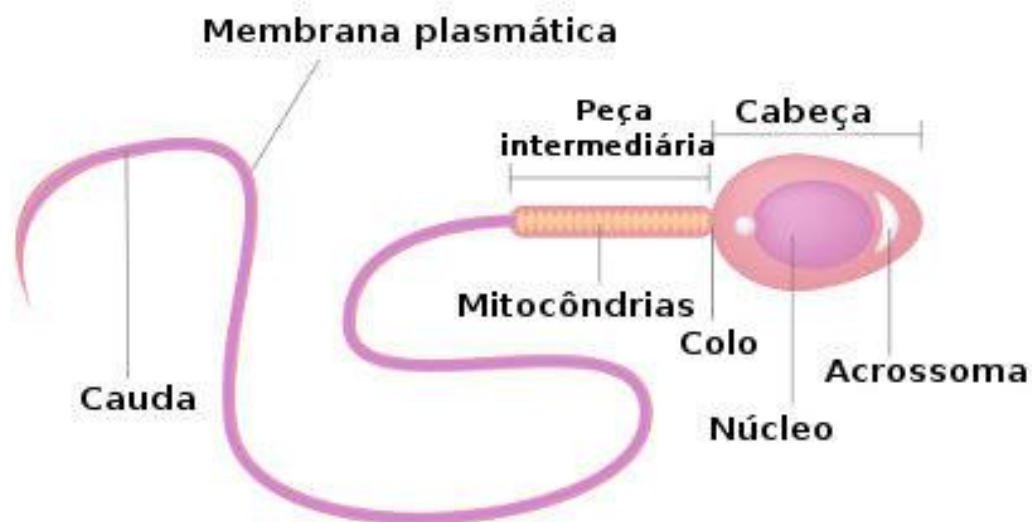
Mediante essas transformações, para que o oócito seja fecundado com sucesso, é necessário que uma espermatíde se torne um espermatozoide, essa transformação se inicia pela condensação do núcleo e seu deslocamento para a região periférica da célula, logo após, é formado o lisossomo modificado ou acrossomo localizado entre o núcleo e a membrana

plasmática, em seguida acontece a formação do flagelo, derivado dos centríolos e constituído de um núcleo de microtúbulos, chamado de axônema (RUA et al., 2014). Boa parte do conteúdo celular é perdido ao longo do processo de espermiogênese, por não ser fundamental a fecundação, assim acaba sendo fagocitado pela célula de sertoli (RUA et al., 2014).

2.2 ESTRUTURA DO ESPERMATOZOIDE

O espermatozoide é composto por cabeça e flagelo, ou cauda, porém ao falarmos de estrutura é necessário detalhar a composição (Figura 2). A cabeça tem forma elíptica, é composta pelo núcleo, acrossoma e uma pequena quantidade de citoplasma. O núcleo é responsável por armazenar o material genético paterno e preenche grande parte da cabeça, o acrossoma ocupa dois terços craniais do núcleo, é responsável pela reação acrossomal durante a fecundação, as membranas acrossomais interna e externa protegem as enzimas do restante da cabeça. O flagelo é dividido em quatro partes: peça de ligação ou colo, peça intermediária, peça principal e peça terminal (VARNER & JOHNSON, 2011; ABOU-HAILA & TULSIANI, 2000).

Figura 2 – Estrutura anatômica do espermatozoide equino.



Fonte: <https://www.biologianet.com/biologia-celular/espermatozoide.htm>

2.3 EXAME ANDROLÓGICO DE GARANHÕES

Existe um momento na criação de cavalos em que é necessário escolher um cavalo que represente as características do criatório, esse animal será denominado como garanhão. Para a concretização desse cargo é importante avaliar suas características reprodutivas. Além dessa finalidade, reprodutores podem ser submetidos a exames andrológicos de rotina durante a estação de monta, no início da vida adulta, em casos de cavalos com a idade avançada, taxa de gestação baixa e para uma avaliação antes do congelamento do sêmen. O primeiro passo é a avaliação do sistema reprodutivo, observar o desenvolvimento completo do aparelho reprodutor, se o animal está apto a coleta de sêmen ou realização de montas naturais, avaliar a viabilidade dos testículos e possíveis interferências causadas pelo meio ambiente ligadas diretamente com o desempenho reprodutivo desse animal (MENKVELD, HOLLEBOOM & RHEMREV, 2011; ARAÚJO et al., 2015).

Esse estudo é um dos pontos chaves para diagnosticar o potencial reprodutivo de um animal, contudo, existem outros fatores, como alimentação inapropriada, deficiência de vitaminas e minerais, como vitamina E e selênio, manejo inadequado, estresse térmico excessivo, intensidade do treinamento, lesões musculoesqueléticas, uso prolongado de antibióticos, principalmente aminoglicosídeos e cefalosporinas e doenças infecciosas, como a brucelose que leva a orquite, podem atrapalhar a carreira reprodutiva desses animais (ALVES, 2015).

Logo após essa primeira avaliação, o espermatozoide se torna o foco dos nossos estudos, para que consiga realizar todas as etapas dentro do sistema reprodutivo feminino, como capacitação espermática, penetração nos revestimentos do ovócito, ligação a zona pelúcida e fusão com o oolema é necessário que esteja morfológicamente apto (YANAGIMACHI, 1994; RODRIGUEZ-MARTINEZ et al., 1997; ARRUDA et al., 2004, 2006).

2.4 AVALIAÇÃO DA MORFOLOGIA ESPERMÁTICA

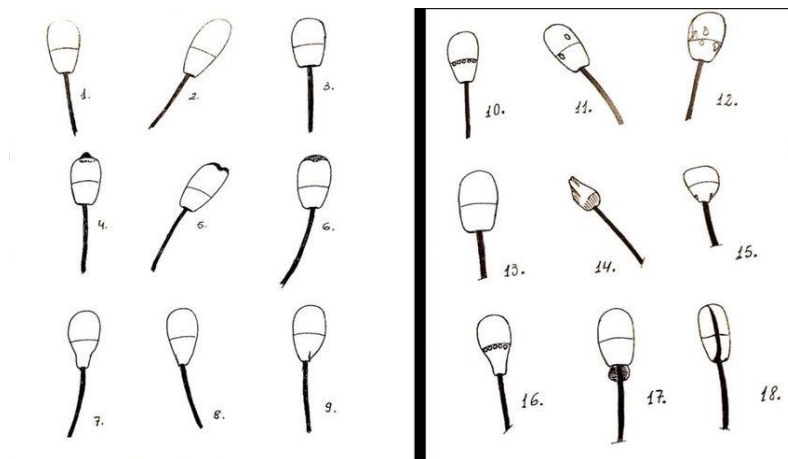
A avaliação da morfologia espermática nada mais é do que o estudo anatômico das células espermáticas obtidas na coleta do sêmen, com o objetivo de classificar as células em normais e que apresentam defeitos ou patologias. Ao juntar essa informação com as outras informações obtidas no exame andrológico, será possível avaliar a fertilidade do animal,

separando os animais em fértil, subfértil e infértil, levando em consideração características indesejáveis no sêmen (ARRUDA et al., 2015).

Durante a realização da avaliação da morfologia espermática é comum visualizar várias células anormais, sendo os defeitos semelhantes ou diversos, ambos prejudicam a fertilidade, alguns exemplos destas alterações patológicas são demonstrados nas Figuras 3, 4 e 5.

Existem várias formas de classificar as células identificadas com as patologias, elas podem ser classificadas de acordo com o local onde se encontra a alteração (cabeça, peça intermediária, cauda, etc.), podem ser classificadas levando em consideração a origem da alteração ao longo da espermatogênese em defeitos primários, secundários e terciários (quando a origem é do testículo, epidídimos ou após a ejaculação, respectivamente). Existe a classificação em compensatórias e não compensatórias, em que aumentar a concentração espermática no momento da inseminação pode compensar ou não os defeitos apresentados, e a classificação mais usual é a que separa as patologias em defeitos maiores e defeitos menores, levando em consideração o impacto que os defeitos tem na fertilidade do sêmen. (HOWARD E PACE, 1988; SAACKE et al., 1994).

Figura 3 – Defeitos espermáticos



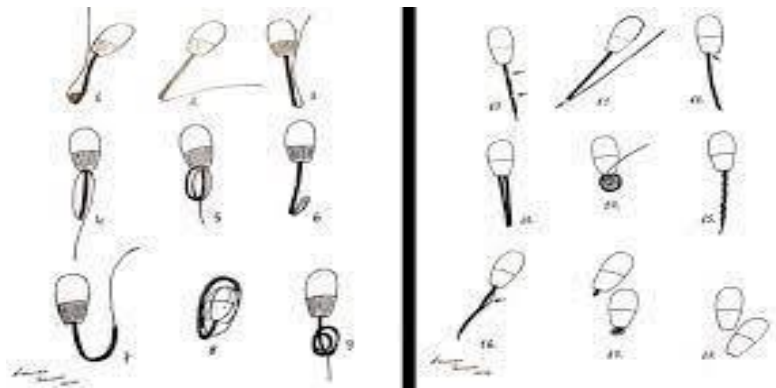
Fonte: OLIVEIRA, 2019

Figura 4 – Defeitos em cauda de espermatozoides



Fonte: http://penta3.ufrgs.br/veterinaria/celula/1.5-def/def_cau.htm

Figura 5 – Defeitos espermáticos



Fonte: OLIVEIRA, 2019

Os defeitos maiores geralmente são formados durante os processos iniciais da espermatogênese, responsável por gerar grande impacto na capacidade fecundante do espermatozoide, são exemplos de defeitos maiores: cauda fortemente dobrada/enrolada, cabeça piriforme, gotas citoplasmáticas proximais e espermatozoides subdesenvolvidos. Defeitos menores são formados ao final da espermatogênese e devido a manipulação do sêmen, causando pouco efeito em relação a capacidade fecundante, defeitos: gota citoplasmática distal, cauda levemente enrolada ou dobrada, cabeça gigante e cabeça pequena (ARAÚJO & ARAÚJO, 2011)

A partir da visualização e classificação dos espermatozoides anormais durante a avaliação da morfologia espermática é possível descobrir a origem dos defeitos, facilitando o

diagnóstico e a atuação do médico veterinário no tratamento e no prognóstico reprodutivo do garanhão (NÖTHLING & IRONS, 2008).

2.4.1 DEFEITOS MAIORES

A cabeça piriforme tem como principal característica a má distribuição do material genético dentro da cabeça, levando a uma assimetria localizada após o acrossoma, caso seja de baixa visibilidade será leve, caso seja nítida é considerado piriforme, esse defeito pode ser transmitido geneticamente, por hipoplasia ou degeneração testicular leve (WENKOFF, 1988).

Patologias de cauda relacionadas aos defeitos maiores são: cauda fortemente dobradas e fortemente enroladas (BLOM, 1973). São ligadas ao período de maturação, localizado no epidídimo, representa patologias como degeneração testicular ou imaturidade sexual nos garanhões (KOEFOED-JOHNSEN et al., 1980; ARRIOLA et al., 1985).

A gota citoplasmática seria o acúmulo de uma quantidade indesejável de citoplasma aderida ao espermatozoide, esse processo acontece na fase de espermiogênese (HERMO et al., 1994). A maturação espermática é realizada no epidídimo, no início desse processo a gota citoplasmática se apresenta na porção cranial, mediante ao avanço da maturação, a gota pode ou não se deslocar no sentido caudal, chegando no final da peça intermediária do flagelo espermático (CORTADELLAS & DUFORT, 1994). Quando é detectada a presença de gotas proximais no ejaculado, está associado a uma falha na espermatogênese ou na função epididimária, prejudicando o potencial reprodutivo do animal, diminuindo a motilidade e a fertilidade dos espermatozoides. (BLOM, 1977B; AMANN et al., 2000; AMARAL et al., 2009).

Acrossomo rompido, enrugado ou dobrado, destacado e knobbed acrossome ou grânulo persistente do acrossomo são defeitos que resultam em uma queda drástica da fertilidade, pois impedem que o espermatozoide se ligue a zona pelúcida no momento da fecundação (THUNDATHIL, J. et al., 2000).

O granulo persistente do acrossomo é um defeito que aparece com frequência, encontra-se na crista apical do espermatozoide, é formado devido ao excesso de matriz acrossomal levando ao dobramento do acrossomo, as causas principais são: aumento testicular, temperatura elevada, estresse, toxinas e origem genética (BRITO, 2007).

2.4.2 DEFEITOS MENORES

Caudas levemente dobradas ou enroladas são características de defeitos que aparecem após a ejaculação ou mediante ao transporte do material genético. A cauda costuma sofrer alterações mediante as mudanças de temperatura (RUA, et al., 2016; MCKINNON, et al., 2011).

As gotas citoplasmáticas distais são formadas ao final da maturação espermática e se localizam na cauda do epidídimo, são classificadas como defeitos menores, porque existe a possibilidade de o espermatozoide fecundar o oócito, durante a passagem pelo sistema reprodutivo masculino ou feminino essa gota pode ser eliminada, tornando o espermatozoide viável (MIES FILHO, 1978; VALE FILHO et al., 2010).

A inserção abaxial é uma alteração na inserção entre a cabeça e a peça intermediária, no colo. Nos equinos, essa alteração é considerada normal, já nos bovinos é patológica e faz parte da contagem das células anormais (BARTH, 1989; PLESSIS & SOLEY, 2012).

2.5 METODOLOGIA DA MORFOLOGIA

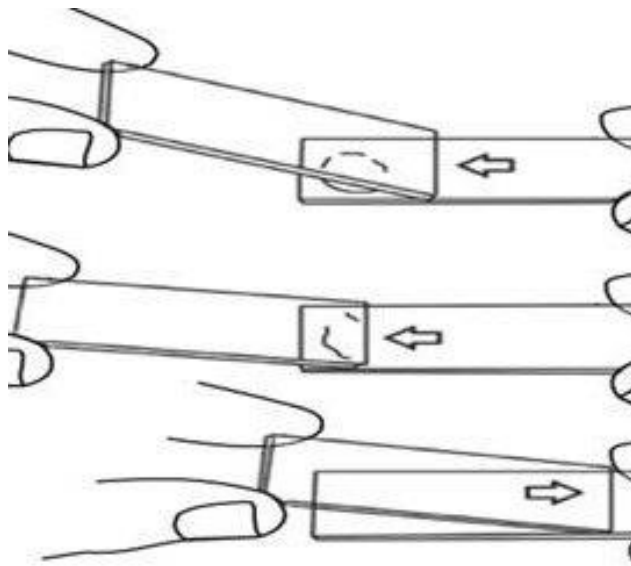
Para que seja feita a morfologia espermática é necessário a coleta do sêmen, para isso precisamos de um garanhão com libido e um manequim artificial ou uma égua que faça essa função, é importante que a égua esteja no cio, para facilitar e estimular a monta do garanhão e devidamente contida, evitando reações indesejáveis (SAMPER et al., 2009). A coleta é realizada através da vagina artificial, apresentando características semelhantes a vagina da égua e temperatura aproximada de 41 a 42 °C (SILVA et al., 2017). Dentro do copo coletor existe um filtro que separa a porção gelatinosa da porção rica em espermatozoides, sendo assim o gel é descartado e o sêmen será estudado (SILVA et al., 2017).

Após a coleta, é realizada a avaliação imediata analisando o volume total do ejaculado, aspecto (cor e densidade), odor, motilidade total em porcentagem (0 a 100%) e vigor em uma escala de 0 a 5 (FÜRST et al., 2005; QUEIROZ, 2003; ARAÚJO et al., 2015). O segundo método é chamado de avaliação mediata, pois os espermatozoides são avaliados de forma estática e não é necessário realizar imediatamente, são avaliados a concentração, a morfologia espermática e integridade de membranas (OLIVEIRA et al., 2019).

A morfologia espermática pode ser realizada por dois métodos, o primeiro seria através do esfregaço corado com sêmen fresco e o segundo seria a preparação úmida (ARRUDA et al., 2011).

No esfregaço corado com sêmen fresco é realizada uma mistura sobre uma lâmina de vidro mantida a 37 °C sendo 50 microlitros de sêmen com 50 microlitros de corante (eosina-nigrosina ou rosa-bengala), a mistura é realizada por outra lâmina de vidro limpa espalhando o conteúdo por igual, esse esfregaço seca em temperatura ambiente, em seguida é levado ao microscópio óptico, no aumento de 1000x sob imersão de óleo (MURCIA-ROBAYO et al., 2018).

Figura 6 – Preparação de esfregaço



Fonte: SALVADOR & FOLHADELLA, 2009.

Para a preparação úmida é necessário realizar uma mistura sobre uma lâmina de vidro, realizada com o auxílio do material demonstrado na Imagem 2, e com uma amostra de sêmen fixado em formal salina na proporção de 1:20 (sêmen:formol), essa mistura é coberta por uma lâminula, que sofre uma leve pressão no centro para retirar o excesso da amostra, que prontamente é seca por um papel filtro que fica em baixo da lâmina de vidro, logo após esse material deve ser levado ao microscópio de contraste de fase com o auxílio do óleo de imersão com o aumento de 1000x, para uma melhor classificação das células (BRITO et al., 2011; FRENEAU, 2011; ARAÚJO et al., 2015).

Imagem 1 – Material de análise espermática

Fonte: Própria, 2021

Durante a manipulação do sêmen é importante lembrar que a diferença de temperatura pode causar lesões nas células, com isso, os materiais utilizados para a avaliação microscópica devem ser aquecidos aproximadamente a 37 °C, temperatura essa que representa o sêmen in natura (BRASIL, 2013; MC KINNON et al., 2011; ARAÚJO et al., 2015). Alterações normalmente observadas provocadas pela manipulação são: cauda dobrada, cauda fortemente enrolada ou alterações no acrossoma (BRASILEIRO et al., 2019; MONTEIRO et al., 2013).

O padrão aceitável para defeitos morfológicos na espécie equina, não pode ultrapassar 30% do total de células do ejaculado, como isso, os defeitos maiores não podem ultrapassar 10% e defeitos menores não podem ultrapassar 20%, animais que ultrapassarem essa porcentagem, fazem parte do grupo sub fértil ou infértil (CBRA, 2013).

Interferências como traumas no sistema reprodutivo, injúrias térmicas, degeneração testicular, varicocele, hidrocele, má nutrição, manejo inadequado, deficiências minerais, deficiência de vitaminas A, E e selênio e estão diretamente relacionadas com o aumento de defeitos espermáticos no garanhão (ALVES, 2015).

Mediante aos sinais apresentados pelo animal e com o intuito de diminuir os defeitos, o ideal seria a retirada dos agentes causadores, juntamente com o auxílio da terapia suporte com agentes antioxidantes, selênio, vitamina A, vitamina E e melatonina, normalização da termorregulação através de duchas com água fria diretamente no sistema reprodutor, anti-inflamatórios não esteroidais, a correção da dieta e utilizando antioxidantes de forma preventiva em sua composição (ALVARENGA & PAPA, 2009; FREITAS et al., 2017; FREITAS et al., 2018).

Garanhões que apresentam uma taxa de defeitos elevada ou problemas que interfiram diretamente na morfologia espermática, possuem prognósticos reservados, mediante a intervenção do veterinário os defeitos podem diminuir ou não e para que aconteça um novo análise comprovatório é necessário esperar 57 dias, quando acontece um novo ciclo da espermatogênese (SENGER, 2003; AMANN, 1993).

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Mediante aos fatos expostos, a avaliação da morfologia espermática tem como função avaliar as células espermáticas de um determinado reprodutor e comparar com os padrões preconizados pelo colégio brasileiro de reprodução animal, a classificação dos defeitos espermáticos deve ser realizada com extrema atenção, pois mediante a esse resultado é atribuída a fertilidade do reprodutor. O veterinário responsável deve estar ciente da rotina do garanhão, avaliando a parte clínica básica, o processo da coleta de sêmen, desde a higienização do pênis até os métodos de avaliação dos espermatozoides, seguindo as normas exigidas pelo colégio brasileiro de reprodução animal. O objetivo desse trabalho foi relatar a forma correta de realizar a morfologia espermática, com o intuito de evitar falhas e diminuir a porcentagem de defeitos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOU-HAILA, A.; Tulsiani, D. R. P. Mammalian sperm acrosome: Formation, contents, and function. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, 379(2), 173–182, 2000.

ALVARENGA, M. A.; PAPA, F. O. Principais distúrbios reprodutivos observados em garanhões no Brasil. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, p. 204-209, 2009.

ALVAREZ, R. H. Apta Regional. Reprodução animal e Biotecnologia. **Pesquisa & Tecnologia**, vol. 11, n. 1, 2014.

ALVES, G. E. S. Aspectos de manejo e condições genitais que podem constituir ameaça à longevidade reprodutiva de garanhões. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, p. 208-213, 2015.

ALVES, G. E. S. Aspectos de manejo e condições genitais que podem constituir ameaça á longevidade reprodutiva de garanhões. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.39, n.1, p.208-213, 2015

AMANN, R. P.; SEIDEL, G. E.; MORTIMER R. G. Fertilizing potential in vitro of sêmen from young beef bulls containing a high or low percentage of sperm with a proximal droplet. **Theriogenology**, v.54, p.1499-1515, 2000.

AMANN, R.P. Functional Anatomy of the Adult Male. In: McKKINON, A.O.; VOSS, J.L. **Equine Reproduction**. 1º ed, Philadelphia: Lea & Fabiger, cap. 76, p. 645-657. 1993

AMANN, R.P. Physiology and endocrinology. In: McKKINON, A.O.; VOSS, J.L. **Equine Reproduction**, p.658-673,1993.

AMARAL, T. B.; SERENO, J. R. B.; PELLEGRIN, A. O. Fertilidade, funcionalidade e genética de touros zebuínos: dados eletrônicos. Corumbá, MS: Embrapa Pantanal; Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte; Planaltina, DF: **Embrapa Cerrados**, 2009.

ARAÚJO, A. M. S.; ARAÚJO, S. A. C. Patologias espermáticas mais comuns em garanhões da raça Pônei Brasileiro. **Archivos de Zootecnia**, v. 60, n. 229, p. 145-148, 2011.

ARAÚJO, A. M. S.; ARAÚJO, S. A. C. Patologias espermáticas mais comuns em garanhões da raça Pônei Brasileiro. **Archivos de Zootecnia**, v. 60, n. 229, p. 145-148, 2011.

ARAÚJO, J. M.; Amorim, GBAG; Pivato, I; Oliveira, RA. Principais pontos abordados no exame andrológico do reprodutor equídeo a campo. **Revista Brasileira de Medicina Equina**, v.59, p.4-13, 2015.

ARRIOLA J.; JOHNSON L. A.; KAPROTH, M.; FOOTEI, R. H. A specific oligoteratozoospermia in a bull: the sperm tail stump defect. **Theriogenology**, v.23, p.899-913, 1985.

ARRUDA, R. P. et al. Morfologia espermática de touros: interpretação e impacto na fertilidade. **Embrapa Pecuária Sudeste-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2015.

ARRUDA, R. P.; CELEGHINI, E. C. C.; ANDRADE, A. F. C.; GARCIA, A.R.; NASCIMENTO J.; RAPHAEL, C. F.; SOUZA, L. W. O. Importância da qualidade do sêmen em programas de IATF e TETF. In: **Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada I**, Londrina, PR: v.1, p. 166-179, 2004.

ARRUDA, R. P.; CELEGHINI, E. C. C.; ANDRADE, A. F. C.; RAPHAEL, C. F.; PERES, K. R.; NEVES, L. C. Influência da qualidade do sêmen nos resultados de prenhez em programas de IATF e TETF. In: **Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada II**, Londrina, PR: p.157-164, 2006.

ARRUDA, R. P.; CELEGHINI, E. C.; ALONSO, M. A.; CARVALHO, H. F.; OLIVEIRA, L. Z.; NASCIMENTO, J.; JAIME, J. D. Métodos de avaliação da morfologia e função espermática: momento atual e desafios futuros. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.35, n.2, p.145-151, 2011

BARTH, A. D. Abaxial tail attachment of bovine spermatozoa and its effect on fertility. **The Canadian Veterinary Journal**, v.30, p.656-662, 1989.

BARTH, A. D.; OKO, R. J. Abnormal morphology of bovine spermatozoa. Ames: **Iowa State University Press**, 1989.

BLOM E. Sperm morphology with reference to bull infertility. In: **First All-India Symposium on Animal Reproduction**, Ludhiana, India. Proceedings. Ludhiana: The Symposium, p.61-81, 1977.

BLOM E. The ultrastructure of some characteristic sperm defects and a proposal for a new classification of the bull spermogram. **Nordisk Veterinaer Medicin**, v.25, p.383-339, 1973.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). **Resultado do Censo Agro**. 2017.

BRASIL. Ministério de Agricultura e Abastecimento (MAPA) **portaria nº 109 de 25 maio de 2009 e 393 de 16 de julho de 2010**. Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, Belo Horizonte (MG); 3 ed:104.

BRASIL. Ministério de Agricultura e Abastecimento (MAPA). **Manual para exame andrológico e avaliação do sêmen animal**. 2.ed. Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 49p, 1998.

BRASILEIRO, L. S.; SEGABINAZZI, L. G. T. M.; MENEZES, E.; SALGUEIRO, C. C.; NOVELLO, G.; SCHEEREN, V. F. C.; NUNES, J. F. Coconut water as an extender component for cooled equine sperm. **Journal of Equine Veterinary Science**, 7869-73, 2019.

BRITO, L. F. C. et al. Effect of method and clinician on stallion sperm morphology evaluation Efeito do método e do clínico na avaliação da morfologia do esperma do garanhão. **Theriogenology**, v. 76, n. 4, pág. 745-750, 2011.

BRITO, L. F. C. Evaluation of stallion sperm morphology Avaliação da morfologia do esperma de garanhão. **Clinical Techniques in Equine Practice**, v. 6, n. 4, pág. 249-264, 2007.

CHENOWETH, P. J. Genetic sperm defects. **Theriogenology**, v.64, p.457-468, 2005.

CORTADELLAS, N.; DURFORT, M. Fate and composition of cytoplasmic droplet of hamster epididymal spermatozoa. **Journal of morphology**, v. 221, n. 2, p. 199-210, 1994.

DONALD, H. P.; HANCOCK, J. L.; Evidence of a gene-controlled sterility in bulls. **The Journal of Agricultural Science**, v.43, p.178-181, 1953.

DU PLESSIS, L.; SOLEY, J. T. Abaxial tail implantation in the emu, *Dromaius novaehollandiae*: morphological characteristics and origin of a rare avian sperm defect. **Theriogenology**, v. 77, n. 6, p. 1137-1143, 2012.

FILHO, A. M. Tecnologia do sêmen. In: **Mies Filho A. Reprodução dos animais e inseminação artificial**. 4.ed. Porto Alegre, RS: Sulina, p.461-513, 1978.

FILHO, V. R. V.; ANDRADE, V. J.; AZEVEDO, N. A. Avaliação andrológica e seleção de tourinhos zebu para reprodução. In: **Simpósio Internacional de Produção de Gado de Corte**, 3, Viçosa, MG. Anais. vol 1, Viçosa, MG: UFV, 2010. p.363-412, 2010.

FRENEAU, G. Aspectos da morfologia espermática em touros. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, 35(2):160-170, 2011.

FÜRST, R.; CARVALHO, G. R.; FÜRST, M. C. O.; RUAS, J. R. M.; BORGES, A. M.; MAFILLI, V. Efeito do resfriamento do sêmen equino sobre sua congelabilidade. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 57(5):599-607, 2005.

HERMAN, H. A; MITCHELL, J. R.; DOAK, G. A. The artificial insemination and embryo transfer of diary and beef cattle. **Illinois: Interstate Publisher**, p.392, 1994.

HERMO, L; OKO, R.; MORALES C. R. Secretion and endocytosis in the male reproductive tract: a role in sperm maturation. **International Review of Cytology**, v.154, p.105-189, 1994.

HOWARD, T. W.; PACE, M. M. Seminal evaluations and artifitial examination. **In: Fertility and infertility in veterinary practice**. 4.ed. London: Bailliere Tindall, p.39-51, 1988.

JOHNSON, L.; VARNER, D. D.; ROBERTS, M. E.; SMITH, T. L.; KEILLOR, G. E.; SCRUTCHFIELD, W. L. Efficiency of spermatogenesis: a comparative approach. **Animal Reproduction Science**, v.60/61, p.471-480, 2000.

KOEFOED-JOHNSEN, H. H.; ANDERSET, J. B.; ANDRESENCD, E.; BLOMCE, E.; PHILIPSENLB, H. The dag defect of the tail of the bull sperm. Studies on the inheritance and pathogenesis. **Theriogenology**, v.14, p.471-475, 1980.

KUDRYAVTSEV, I. V.; SAFRONOVA, L. D.; KUDRYAVTSEV, P. I. Controle genético da espermatogênese e determinação do sexo em mamíferos. **Russian Journal of Developmental Biology**, v. 34, n. 6, pág. 337-346, 2003.

LEITE, T. G. **Tempo de equilíbrio na criopreservação do sêmen: Efeitos sobre características de motilidade e de integridade das membranas espermáticas de touros Gir leiteiro**. 2008. 121 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2008.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Revisão do Estudo do Complexo do Agronegócio Cavalo**. 2016

MCKINNON, A. O.; EDWARD, L.; SQUIRES, E. L.; WENDY, E. V.; DICKSON, V. D. **Equine reproduction**. 2.ed. Ames: Wiley-Blackwell, 3288p, 2011.

MCKINNON, A. O.; SQUIRES, E. L.; VAALA, W. E.; VARNER, D. D. **Equine reproduction**. USDA: John Wiley & Sons, 2011.

MENKVELD, R.; HOLLEBOOM, C. A.; RHEMREV, J. P. Measurement and significance of sperm morphology. **Asian Journal of Andrology**, v. 13, n. 1, p. 59-68, 2011.

MONTEIRO, G. A.; GUAISTI, P. N.; ROCHA, A. S.; MARTIN, I.; SANCLER-SILVA, Y. F. R.; DELL'AQUA, C. P. F.; PAPA, F. O. Effect of storage time and temperature of equine epididymis on the viability, motion parameters, and freezability of epididymal sperm. **Journal of Equine Veterinary Science**, 33(3):169-173, 2013.

MURCIA-ROBAYO, R. Y. et al. Efeitos do método de coloração e experiência clínica na avaliação da morfologia do esperma de garanhão. **Ciência da reprodução animal**, v. 188, p. 165-169, 2018.

NÖTHLING, J. O.; IRONS, P. C. A simple multidimensional system for the recording and interpretation of sperm morphology in bulls. **Theriogenology**, v.69, p. 603-611, 2008.

OLIVEIRA, V. S.; MORELLI, K. G.; COUTINHO, G. T. R. M. Princípios básicos da manipulação, análise, e envio do sêmen equino. **PUBVET**, v. 13, p. 176, 2019.

QUEIROZ, V. S. Estudo do efeito das condições de manipulação do sêmen de jaguatiricas (*Leopardus pardalis*, Linnaeus, 1758) sobre a capacitação e a integridade morfológica e funcional dos espermatozóides. **Master of Science**, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil, 2003.

RODRIGUEZ-MARTINEZ, H.; ZHANG, B. R.; LARSSON, B. Bovine semen quality and the ability to produce embryos in vivo and in vitro. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v.25, supl, p.108-126, 1997.

RUA, M. A. S. et al. Espermatogênese em equinos. **PUBVET**, Londrina, v. 8, N. 7, Ed. 256, Art. 1696, Abril, 2014.

RUA, M. A. S. et al. Repetibilidade das características seminais, espermáticas e fertilidade de garanhões. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 11, n. 2, p. 124-131, 2016.

RUSSELL, L. D.; ETTLIN, R. A.; HIKIM, A. P. S.; CLEGG, E. D. Histological and histopathological evaluation of the testis. **Clearwater: Cache River Press**, 284p, 1990.

SAACKE, R. G.; NADIR, S.; NEBEL, R. L. Relationship of semen quality to sperm transport, fertilization, and embryo quality in ruminants. **Theriogenology**, v. 41, n. 1, p. 45-50, 1994.

SALVADOR, D. F.; FOLHADELLA, I. M. **Avaliações microscópicas do sêmen**. Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil: Educação Pública, 2009.

SAMPER, J. C.; PYCOCK, J. F.; MCKINNON, A. O. **Current therapy in equine medicine**. Philadelphia, Pensilvânia, USA: Saunders Elsevier, 2009.

SENGER, P.L. Pathways to pregnancy and parturition. 2o Ed. STOUT, T.A. Modulating reproductive activity in stallions: a review. **Animal Reproduction Science**, 89, 93–103, 2003.

SILVA, L. T. et al. Comparação morfológica da célula espermática equina no sêmen fresco e refrigerado. In: **Embrapa Semiárido-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: ENCONTRO ANUAL DA BIOFÍSICA, 2017, Recife. Anais. Recife: UFPE, 2017.

THUNDATHIL, J. et al. Effect of the knobbed acrosome defect in bovine sperm on IVF and embryo production. **Theriogenology**, v. 54, n. 6, p. 921-934, 2000.

VARNER, D. D.; JOHNSON, L. From a Sperm's Eye View: Revisiting Our Perception of this Intriguing Cell. In: A. McKinnon, E. Squires, W. Vaala, & D. Varner, **Equine Reproduction** (Second, p. 909–990). Wiley-Blackwell. 2011.

WENKOFF, M. S. **The evaluation of bulls for breeding soundness**. Manual. 2 ed. Ottawa: Canadian Veterinary Medical Association, 1988. 48p.

YANAGIMACHI, R. Mammalian fertilization. In: Knobil E, Neill JD. The physiology of reproduction. **New York: Raven Press**, p.189-317, 1994.