



**ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA**  
INSTITUTO POLITÉCNICO DE CASTELO BRANCO

**Maneio Reprodutivo em Equinos: Técnicas de  
Avaliação da Qualidade Espermática e suas  
Relações com a Fertilidade**

**Engenharia das Ciências Agrárias – Ramo Animal  
Relatório do Trabalho de Fim de Curso**

**Ana Margarida Ferreira da Silva Maia Ródrigues**

— ◆ —  
**CASTELO BRANCO  
2005**

## **Índice Geral**

**Resumo**

**Abstract**

|                                                                                   |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Introdução.....</b>                                                            | <b>1</b>  |
| <b>I. Revisão Bibliográfica .....</b>                                             | <b>2</b>  |
| <b>I.1. Época de Reprodução.....</b>                                              | <b>2</b>  |
| <b>I.2. Maneio Reprodutivo.....</b>                                               | <b>2</b>  |
| <b>I.2.1. Detecção do estro .....</b>                                             | <b>2</b>  |
| <b>I.2.2. Inseminação Artificial .....</b>                                        | <b>3</b>  |
| <b>I.2.3. Diagnóstico de Gestação.....</b>                                        | <b>4</b>  |
| <b>I.3. Recolha e Avaliação de Esperma .....</b>                                  | <b>4</b>  |
| <b>I.3.1. Obtenção do ejaculado .....</b>                                         | <b>4</b>  |
| <b>I.3.1.1. A vagina artificial .....</b>                                         | <b>4</b>  |
| <b>I.3.1.2. Preparação do Garanhão.....</b>                                       | <b>6</b>  |
| <b>I.3.1.3. Colheita de sémen ou esperma .....</b>                                | <b>6</b>  |
| <b>I.3.2. Avaliação de Esperma.....</b>                                           | <b>8</b>  |
| <b>I.3.2.1. Avaliação dos parâmetros quantitativos .....</b>                      | <b>8</b>  |
| <b>I.3.2.1.1. Volume.....</b>                                                     | <b>8</b>  |
| <b>I.3.2.1.2. Concentração .....</b>                                              | <b>9</b>  |
| <b>I.3.2.2. Avaliação dos parâmetros qualitativos.....</b>                        | <b>10</b> |
| <b>I.3.2.2.1. Aparência do ejaculado.....</b>                                     | <b>14</b> |
| <b>I.3.2.2.2. Mobilidade.....</b>                                                 | <b>14</b> |
| <b>I.3.2.2.3. Morfologia e Vitalidade .....</b>                                   | <b>15</b> |
| <b>I.3.3. Avaliação de outros parâmetros.....</b>                                 | <b>17</b> |
| <b>I.3.3.1. Integridade do Acrossoma .....</b>                                    | <b>17</b> |
| <b>I.3.3.2. Avaliação da apoptose e necrose nos espermatozóides ejaculados ..</b> | <b>18</b> |
| <b>I.3.3.2.1. Apoptose Inicial .....</b>                                          | <b>19</b> |
| <b>I.3.3.2.2. Apoptose Tardia .....</b>                                           | <b>20</b> |
| <b>I.3.3.3. Avaliação do stress oxidativo.....</b>                                | <b>21</b> |

|                                                                               |           |
|-------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| I.3.3.3.1. Danos a Proteínas .....                                            | 21        |
| I.3.3.3.2. Danos a Lípidos.....                                               | 19        |
| <b>II. Material e Métodos .....</b>                                           | <b>25</b> |
| II.1. Recolha e Avaliação de Esperma.....                                     | 25        |
| II.2. Avaliação de outros parâmetros .....                                    | 25        |
| II.2.1. Integridade do Acrossoma .....                                        | 25        |
| II.2.2. Avaliação da apoptose e necrose nos espermatozóides ejaculados.....   | 26        |
| II.2.2.1. Apoptose Inicial.....                                               | 26        |
| II.2.2.2. Apoptose Tardia.....                                                | 27        |
| II.2.3. Avaliação do stress oxidativo .....                                   | 28        |
| II.2.3.1. Determinação da Proteína.....                                       | 28        |
| II.2.3.2. Determinação de grupos carbonilos .....                             | 28        |
| II.2.3.3. Determinação do conteúdo de TBARS .....                             | 29        |
| II.3. Inseminação Artificial .....                                            | 29        |
| II.4. Taxas de Fertilidade .....                                              | 30        |
| II.5. Análise Estatística .....                                               | 31        |
| <b>III. Resultados e Discussão.....</b>                                       | <b>28</b> |
| III.1. Avaliação de Esperma.....                                              | 28        |
| III.2. Avaliação de outros parâmetros .....                                   | 36        |
| III.2.1. Integridade do Acrossoma .....                                       | 36        |
| III.2.2. Avaliação da apoptose e necrose nos espermatozóides ejaculados ..... | 38        |
| III.2.2.1. Apoptose Inicial .....                                             | 38        |
| III.2.2.2. Apoptose Tardia .....                                              | 39        |
| III.2.3. Avaliação do stress oxidativo.....                                   | 41        |
| III.2.3.1. Determinação da Proteína .....                                     | 41        |
| III.2.3.2. Determinação de grupos carbonilos .....                            | 39        |
| III.2.3.3. Determinação do conteúdo de TBARS.....                             | 45        |
| III.3. Taxas de Fertilidade.....                                              | 49        |

#### **IV. Considerações Finais ..... 49**

#### **Bibliografia**

#### **Anexos**

## Resumo

A análise de rotina do sémen dos garanhões baseia-se sobretudo na microscopia óptica. Contudo, existem ainda animais sub-férteis ou mesmo inférteis que não são identificados com a análise de sémen convencional (volume, concentração, mobilidade, vitalidade, morfologia e pH). O objectivo deste estudo foi analisar outras técnicas laboratoriais, determinação de TBARS, Grupos Carbonilos, Integridade Acrossómica (PSA/FITC) e Apoptose (Annexin-V e TUNEL), que possam ser introduzidas na análise rotineira de esperma, e correlacioná-las com a fertilidade de três garanhões férteis e um sub-fértil. Os métodos para detecção de apoptose nas células espermáticas (TUNEL e Annexin-V) sugerem que a morte celular programada não ocorre em células maduras. Os níveis de TBARS e Grupos Carbonilos encontrados apresentaram correlação significativa ( $P < 0,05$ ) com alguns parâmetros seminais, nomeadamente concentração espermática e mobilidade, contrariamente ao PSA/FITC que é a única técnica que se correlaciona significativamente com as taxas de fertilidade. Para o garanhão sub-fértil encontrou-se correlação significativa ( $r = 0,70$ ,  $P < 0,01$ ) entre a mobilidade espermática e a oxidação proteica a nível da célula assim como entre os níveis de peroxidação lipídica no plasma seminal, a concentração espermática ( $r = 0,52$ ,  $P < 0,01$ ) e a mobilidade ( $r = 0,49$ ,  $P < 0,01$ ). Apesar das técnicas utilizadas para a detecção da apoptose, para a avaliação da oxidação proteica e peroxidação lipídica não apresentarem correlação com a fertilidade, estas fornecem informações adicionais que podem estar na origem da sub-fertilidade dos garanhões. Observou-se no entanto que a integridade acrossómica, assim como a mobilidade e a morfologia espermática, está altamente correlacionada com a fertilidade.

**Palavras-chave;** Equinos; Qualidade espermática; Acrossoma; Apoptose; TBARS; Grupos Carbonilos; Fertilidade.