



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**MANEJO DO SÊMEN OVINO COMO FORMA DE FACILITAR SEU
USO E DIFUSÃO DA GENÉTICA**

Rayssa Silva dos Santos
Orientador: Prof. Dr. Ivo Pivato

BRASÍLIA – DF
MAIO/2021



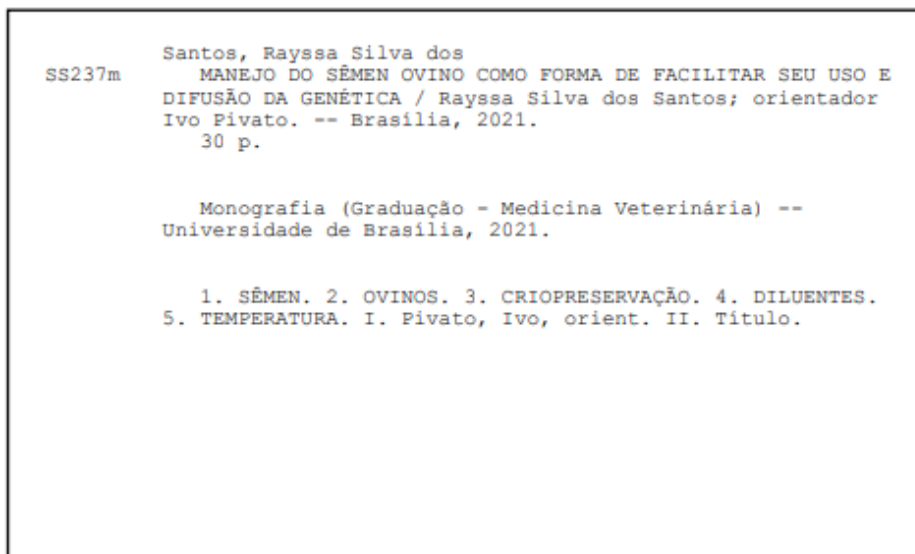
RAYSSA SILVA DOS SANTOS

**MANEJO DO SÊMEN OVINO COMO FORMA DE FACILITAR SEU
USO E DIFUSÃO DA GENÉTICA**

Trabalho de conclusão de curso de
graduação em Medicina Veterinária
apresentado junto à Faculdade de
Agronomia e Medicina Veterinária da
Universidade de Brasília.

Orientador: Prof. Dr. Ivo Pivato

BRASÍLIA – DF
MAIO/2021



Cessão de Direitos

Nome do Autor: Rayssa Silva dos Santos

Título do Trabalho de Conclusão de Curso: Manejo do sêmen ovino como forma de facilitar seu uso e difusão da genética.

Ano: 2021

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta monografia e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação e nenhuma parte desta monografia pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.

(Assinatura)

Rayssa Silva dos Santos

Rayssa Silva dos Santos

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome do autor: SANTOS, Rayssa Silva

Título: Manejo do sêmen ovino como forma de facilitar seu uso e difusão da genética.

Trabalho de conclusão de curso de graduação em Medicina Veterinária apresentado junto à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília.

Aprovado em: 11/05/2021

Banca Examinadora

Prof. Dr. Ivo Pivato

Julgamento: Aprovada

Instituição: FAV/UnB

Assinatura: 

Prof. Sérgio Lúcio Salomon Cabral

Julgamento: APROVADA

Instituição: FAV/UnB

Assinatura: 

Med. Vet. Tiago Mendonça de Souza

Julgamento: Aprovada

Instituição: FAV/UnB

Assinatura: 

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela minha vida, e por me ajudar a ultrapassar todos os obstáculos encontrados até aqui. A Nossa Senhora que intercede por mim a cada dia.

Aos meus pais, Expedita e Manoel, por terem me dado a vida, mas principalmente a minha mãe que com muita força e amor conseguiu me criar sozinha, sendo a minha base e meu maior exemplo de mulher. Ao meu filho Nicolas, que me dá coragem todos os dias para continuar e conquistar o melhor para nós.

A minha madrinha Stella e toda sua família (Dona Maria, Matheus e Marcos), que me acolheram e me deram o apoio necessário durante toda a graduação.

Aos meus amigos da vida Adriano, Sarah, Igor, Lukas, Danilo, Mayla, Laiane, Lucas, Vinícius, Maria Júlia, Vívian, Paulo, Alisson, Elder, Gabrielle, que sempre me apoiaram e não permitiram que eu desistisse.

Aos meus amigos de caminhada de Unb, Marília, Nathália Hanna, Gideonny, Júllia, Lívia, Adryele, Maria Williane, Angellina, Kamilla, Marina, Luis Guilherme, Thiago, Neyton Carlos, Isadora, Bruno, Daniel, por todas as horas de estudos, desabafos e caronas.

A todos os professores da veterinária por todos os ensinamentos, mas principalmente ao Rodrigo Vidal e Sérgio Lúcio por me darem oportunidades de estágios e projetos.

A todos os trabalhadores da Fazenda Água Limpa da Unb que tive contato e que de alguma forma melhoraram o meu dia, mas principalmente ao Rogério, Seu Antônio e Ramon que me ajudaram nos projetos científicos.

Ao meu orientador, Ivo Pivato, que me acolheu com tanta compreensão, disponibilidade e paciência durante todo o processo desse trabalho de conclusão de curso. E ao veterinário Tiago que me acolheu, ajudou e apoiou nessa etapa final da graduação. A técnica Fabieni pela ajuda, conversas e paciência nas análises estatísticas.

E por fim, agradeço todos as pessoas que contribuíram direta e indiretamente para realização deste experimento/trabalho.

Sumário

LISTA DE ABREVIATURAS.....	vi
LISTA DE TABELAS	vii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1 População de Ovinos do Brasil	2
2.2 Produtor Rural.....	3
2.3 Biotécnicas.....	3
2.3.1 Inseminação Artificial.....	4
2.3.2 Criopreservação.....	5
2.4 Diluentes	6
2.4.1 Leite	6
2.4.2 Gema de ovo	7
2.5 Temperatura	8
2.6 Avaliação Espermática	8
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	9
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	10
5 – CONCLUSÃO	15
REFERÊNCIAS.....	16

LISTA DE ABREVIATURAS

% - Porcentagem;

°C – Celsius;

C – Carneiros;

DF – Distrito Federal;

DNA - Ácido Desoxirribonucleico

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária;

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística;

IA – Inseminação Artificial;

IATF – Inseminação Artificial em Tempo Fixo;

UHT - temperatura ultra alta;

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Médias de turbilhamento, motilidade e vigor espermático no sêmen	11
TABELA 2 - Médias de motilidade e vigor espermático apresentadas pelo carneiro 1 nos 3 diluentes, 2 temperaturas e 3 tempos diferentes.....	11
TABELA 3 - Médias de motilidade e vigor espermático apresentadas pelo carneiro 2 nos 3 diluentes, 2 temperaturas e 3 tempos diferentes.....	12
TABELA 4 - Médias de motilidade e vigor espermático apresentadas pelo carneiro 3 nos 3 diluentes, 2 temperaturas e 3 tempos diferentes.....	12
TABELA 5 - Médias de acrossomas presentes no esfregaço espermático do carneiro 1 nos 3 diluentes, 2 temperaturas e 3 tempos diferentes.....	13
TABELA 6 - Médias de acrossomas presentes no esfregaço espermático do carneiro 2 nos 3 diluentes, 2 temperaturas e 3 tempos diferentes.....	14
TABELA 7 - Médias de acrossomas presentes no esfregaço espermático do carneiro 3 nos 3 diluentes, 2 temperaturas e 3 tempos diferentes.....	14

RESUMO

A avaliação dos espermatozoides é um critério importante para escolha de carneiros para a reprodução. Esse trabalho teve como objetivo avaliar o sêmen de carneiros *in vitro* usando 3 diluentes diferentes (leite UHT bovino desnatado, acrescido de 5% de gema de ovo e acrescido de 10% de gema de ovo) e em duas temperaturas (5°C e temperatura ambiente). O sêmen foi avaliado no momento da diluição, 4 h, 8 h e 24 h. Também foi realizado o esfregaço nos tempos de 4, 8 e 24h para verificar a presença ou ausência de acrossoma. Os três carneiros utilizados um é da raça Morada Nova, um da raça Dorper e um meio sangue Morada Nova Santa Inês. O sêmen foi coletado através de uma vagina artificial, examinado (turbilhamento, motilidade, vigor imediatamente, e depois concentração e morfologia) sendo então adicionado em cada diluente. Foi observada diferença significativa entre os diluentes nas variantes de motilidade, vigor e no percentual de acrossomas presentes (significância). Conclui-se a eficiência dos diluentes na criopreservação do sêmen.

Palavras Chaves: carneiros, reprodução, diluentes, temperatura, espermatozoides, criopreservação.

ABSTRACT

The evaluation of sperm is an important criterion for choosing sheep for breeding. This work aimed to evaluate the semen of sheep in vitro using 3 diluents (UHT skimmed milk, 5% egg yolk and 10% egg yolk) and at two temperatures (5°C and room temperature). The semen was evaluated at the time of dilution 0h, 4h, 8h and 24h. The smear was also performed at, 4, 8 and 24 hours to check for the presence or absence of acrosome. The 3 rams used are one of the Morada Nova breed, one of the Dorper breed and one Morada Nova Santa Inês half blood. The semen was collected through an artificial vagina, examined (whirling, motility, vigor immediately, and then concentration and morphology) and was then added to each diluent. It was observed the difference between the diluents in the motility, vigor variants and no percentage of acrosomes present. The efficiency of the diluents in the cryopreservation of the semen is concluded.

Key words: sheep, reproduction, diluents, temperature, sperm, cryopreservation.

1. INTRODUÇÃO

A ovinocultura está presente no mundo todo, isso devido a capacidade de adaptação desses animais a diferentes climas, vegetações e relevos. A sua importância para a economia se dá pela obtenção de carne, leite, lã e pele (VIANA, 2008). No Brasil, o crescimento populacional dessa espécie está relacionado principalmente ao mercado de carne e lã, predominantemente nas regiões Nordeste e Sul do país (IBGE, 2019). A multiplicação ovina se dá por técnicas de manejo adequadas, avanços no melhoramento genético e introdução de novas raças no rebanho nacional (VIANA, 2008).

Segundo dados do IBGE (2019), a região Centro-Oeste está em terceiro lugar na quantidade de animais. No Distrito Federal, há poucos rebanhos de ovinos, porém os que estão presentes na região possuem um grande número de animais, sendo explorados comercialmente para carne e venda de reprodutores (QUESADA et al., 2002).

O manejo do sêmen (resfriamento e congelação), possibilita o melhoramento genético e expansão do rebanho em diversas áreas do país, fazendo com que um mesmo animal tenha sua progênie levada para qualquer lugar, sendo assim, escolhidos animais com os melhores materiais genéticos (BITTENCOURT et al., 2013), o que influenciaria no aumento da produção de carne e na escolha de animais superiores.

A criopreservação de sêmen em pequenos ruminantes é uma técnica muito importante pois possibilita aumentar o tempo de conservação espermática e potencializa a utilização dos reprodutores. Porém é uma técnica ainda muito pouco utilizada no cenário nacional, devido a resultados insatisfatórios na fertilização nas fêmeas (MAIA, 2015).

Por isso, estudos sobre essa técnica tem se concentrado em melhorar a composição dos diluentes, das temperaturas e as avaliações de qualidade espermáticas, visando preservar a viabilidade e fertilidade dos espermatozoides (MAIA, 2015).

O objetivo desse trabalho foi estudar diluentes de baixo custo e de fácil obtenção visando aumentar a vida útil do sêmen ovino sem perder sua qualidade, comparando diferentes tempos e temperaturas e que estejam ao alcance de todos os criadores.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 População de Ovinos do Brasil

A Pesquisa da Pecuária Municipal realizada pelo IBGE (2019) mostra que o rebanho brasileiro de ovinos é de aproximadamente 19,7 milhões de cabeças, ocupando o 18º lugar no ranking dos principais países produtores da espécie. A maior concentração desses animais é na região Nordeste que apresentou taxas de crescimento positivas nos anos de 2018/2019, tendo um aumento de 6,98%. Esta região reúne 68,54% do rebanho nacional de ovinos, logo em seguida vem a região Sul com 20,8% e a região Centro-Oeste com 5,3% (EMBRAPA, 2019).

Dos 13,5 milhões presentes na região Nordeste, a Bahia é o estado com maior efetivo ovino, com 22,1% do rebanho nacional. O município de Casa Nova, é o que possui o maior número de animais, representando cerca de 2,35% do rebanho do país. O segundo estado em número de animais é o Rio Grande do Sul com 15,51% do rebanho, depois Pernambuco (13,71%), Ceará (12,07%), Piauí (8,47%) e Rio Grande do Norte (4,19%). A região Nordeste, nos últimos anos influenciou positivamente a taxa de crescimento do rebanho nacional de ovinos (MAGALHÃES et al., 2019).

A região Sul, tem 3.958.484 de animais (20,8% do rebanho nacional). Os estados dessa região apresentam os seguintes dados: Paraná – 588 mil (2,99%); Santa Catarina – 311 mil (1,58%); Rio Grande do Sul – 3 milhões (15,51%) (IBGE, 2019)

O Centro-Oeste, tem 1.045.242 cabeças de ovinos (5,3% do rebanho nacional). Seus estados apresentam os seguintes números de animais: Mato Grosso do Sul - 432 mil (2,2%); Mato Grosso - 467 mil (2,3%); Goiás - 122 mil (0,62%), e o Distrito Federal - 21 mil (0,1%), segundo dados do IBGE (2019).

O Distrito Federal manteve o número de cabeças do rebanho ovino desde 2009, (IBGE, 2019). No ano de 2010, dois estabelecimentos de abates de ovinos e caprinos foram implementados na região, abatendo cerca de 7,8 toneladas de animais (CRUZ, 2011). Segundo SOUZA (2006), o crescimento da ovinocultura no DF no decorrer dos anos, pode ser explicado pela sua população que é composta por muitas

pessoas do Nordeste e Sul, regiões com maiores efetivos de ovinos do país. Ainda Segundo SOUZA (2006) para que o crescimento do rebanho no DF aconteça de uma forma positiva, precisa de uma integração entre os criadores, abatedouros, mercados e consumidor final.

2.2 Aplicações das Biotécnicas para o produtor rural

Na ovinocultura brasileira, a grande parte dos criadores fazem a criação de subsistência, com métodos tradicionais, sem a utilização de biotécnicas o que limita a eficiência reprodutiva do rebanho (FONSECA, 2006). O uso de biotécnicas para o pequeno produtor, permitiria o acesso a genética de animais considerados superiores, sem o alto custo da aquisição e criação de reprodutores e de forma mais rápida. (MAIA, 2015; COELHO, 2017).

Segundo FISCHER NETO (2009), outra vantagem para o produtor rural além de direcionar os custos para reprodutores testados e comprovados como geneticamente melhoradores, também diminui o número de machos reprodutores no período de estação de monta, aumentando assim a qualidade genética do rebanho com menor custo.

2.3 Biotécnicas

O conhecimento sobre biotécnicas resulta no melhoramento genético através da seleção dos melhores animais de um rebanho. Algumas biotécnicas como inseminação artificial, criopreservação, transferência de embriões, clonagem, entre tantas outras, são responsáveis pela seleção genética que visam um melhoramento animal (RODRIGUES & ÁVILA RODRIGUES, 2009). As biotécnicas reprodutivas buscam animais com os melhores genes e aqueles que se destacam na produção, para aumentar o número desses indivíduos e seus descendentes, visando assim melhorar a produtividade e a genética e reduzindo custos de produção, já que animais inferiores serão descartados e perdas econômicas com animais pouco produtivos serão evitadas (VIANA et al., 2010).

No Brasil as biotécnicas reprodutivas nos ovinos associadas a um manejo adequado dos animais como higienização, mão de obra qualificada, bem estar animal, apresentam um retorno significativo na produção de uma forma mais rápida, melhorando assim a economia do produtor. As práticas mais comuns de manejo reprodutivo nessa espécie são: inseminação artificial, criopreservação de sêmen, sincronização de estro, estação de monta, superovulação, diagnóstico precoce de prenhez, entre outras (SIMPLÍCIO et al., 2007).

2.3.1 Inseminação Artificial

No Brasil, a inseminação artificial ganhou seu espaço no período de 1940 a 1949, através de instituições de ensino que disponibilizavam cursos sobre a técnica e da criação de postos de inseminação pelos estados brasileiros (RODRIGUES & ÁVILA RODRIGUES, 2009). Hoje em dia, a inseminação artificial é uma das técnicas mais utilizadas em animais de produção. Essa técnica consiste na aplicação do sêmen, por meio de instrumentos, no sistema reprodutor das fêmeas.

Nos pequenos ruminantes, ela permitiu um aumento e o melhoramento genético, controle das taxas reprodutivas, prevenção de doenças transmissíveis, disseminação de animais superiores e preservação de raças ovinas (CSEH et al., 2012). Estudos sobre IA tem se concentrado nos progressos referentes a preservação da viabilidade e da capacidade de fertilização dos espermatozoides, mostrando a importância da composição dos diluentes, os protocolos de temperatura (resfriado ou congelado) e na avaliação espermática, que juntos tem como objetivo final prever a taxa de fertilidade do sêmen (MAIA, 2015).

Segundo FONSECA (2006) falhas na inseminação artificial em ovinos podem ocorrer quando são utilizados reprodutores que não foram testados (aptidão andrológica ou genética), na observação adequada do estro (em IATF), na dificuldade de realizar a técnica de inseminação dependendo da via e falha na conservação do sêmen.

A inseminação artificial pode ser realizada de três formas: vaginal, cervical (transcervical), intrauterina (laparoscopia). Na técnica vaginal o sêmen é depositado no fundo da vagina, na técnica cervical a deposição do sêmen é em direção a luz uterina, podendo ser cervical superficial ou intracervical (MAIA, 2015). A técnica

intrauterina (laparoscopia) é a melhor, pois foi desenvolvida para solucionar as dificuldades encontradas nas outras duas técnicas citadas. Além de ser a técnica com a deposição de sêmen diretamente no útero, aumentando assim a taxa de fertilização. Porém, é a mais trabalhosa e onerosa, pois requer equipamento, uma intervenção anestésica e cirúrgica. Entretanto a laparoscopia suplanta uma das principais dificuldades que é a cérvix uterina desses animais que é longa, tubular, fibrosa e com anéis desalinhados que formam uma barreira física natural (KERSHAW et al., 2005; SIMPLÍCIO et al., 2007).

A temperatura em que o sêmen é conservado, também influencia nos resultados. O sêmen fresco, utilizado na hora pela técnica vaginal, tem taxas de prenhez maior do que o sêmen resfriado ou congelado (FONSECA, 2006). Segundo MAIA (2015), o sêmen congelado (diluído) apresenta melhores resultados na técnica intrauterina, pois os espermatozoides são depositados diretamente no útero, com isso a taxa de concepção se assemelha ao da monta natural.

2.3.2 Criopreservação

Segundo MAIA (2015), no ano de 1940 a criopreservação de espermatozoides dava os primeiros passos com a descoberta do glicerol como crioprotetor. A função da criopreservação é armazenar o sêmen por tempo indeterminado. A desvantagem dessa técnica é que existem os danos causados pelo congelamento e descongelamento, além da composição dos diluentes, que afetam a qualidade e fertilidade final dos espermatozoides. Por isso a importância de usar diluentes e crioprotetores adequados, monitorar a temperatura de congelamento e descongelamento (BARROS et al., 2016).

Os danos causados pela mudança de temperatura na criopreservação, ocorrem pois os espermatozoides de ovinos possuem uma membrana de proteção mais sensível do que os demais animais, influenciando na sua interação com outras células dentro do trato genital da ovelha que já é uma barreira física natural (pela sua anatomia), conseqüentemente a sua capacidade de fecundação acaba sendo menor (BICUDO et al., 2005).

2.4 Diluentes

O diluente tem como função proteger os espermatozoides e preservar as suas estruturas contra as injúrias causadas pela criopreservação. São utilizados para refrigeração e congelamento com o objetivo de conservar a motilidade e fertilidade por determinado tempo, fornecer energia para as células espermáticas e prevenir mudanças decorrentes da alteração do ambiente (CHIRINÉA et al., 2006). Os componentes de um diluente podem ser de origem animal ou vegetal (CAVALCANTE et al., 2014). Uma outra justificativa para o uso dos diluentes, é retardar o estresse oxidativo que ocorre de forma natural nos espermatozoides, mas quando ocorre em excesso pode prejudicar esse tipo de célula destruindo a membrana e alterando o DNA (CASTILHO et al., 2009).

Os diluentes e crioprotetores são classificados por seu efeito em não penetrante e penetrante. O não penetrante age de forma extracelular, não atravessando a membrana plasmática das células, exemplos desse tipo são o leite e a gema do ovo. Já o crioprotetor penetrante age de forma intracelular e extracelular, permeabilizando a membrana plasmática, temos como exemplos o glicerol, o etilenoglicol, entre outros (SANTOS et al., 2018).

2.4.1 Leite

Um dos diluentes mais utilizados na criopreservação é o leite, pelo seu custo baixo e sua praticidade no manejo. É classificado como um crioprotetor não penetrante, o que significa que mantém as características do sêmen com baixas alterações e age no meio extracelular (MAIA, 2015). O leite é um meio isotônico, ou seja, apresenta concentração igual do ambiente celular, o que favorece a viabilidade dos espermatozoides por mais tempo quando é utilizado como diluente. A parte proteica do leite é importante pois tem ação tamponante no meio celular (CARVALHO et al., 2008).

Durante a refrigeração, a proliferação bacteriana se torna mais lenta, isso é favorável pois no leite fresco a existência de microorganismos é algo que não dá para controlar. Por isso, o leite fresco acaba sendo um diluente de curto prazo de

validade, assim não mantendo a suas propriedades por muito tempo. (MEIRELLES et al., 1998)

O leite desnatado é muito utilizado como diluente, sendo ele leite UHT ou em forma de leite em pó. O leite UHT, se torna praticamente estéril devido ao seu processo de industrialização em que é submetido a altas temperaturas (+ 132°C), isso proporciona condições de armazenamentos favoráveis por mais tempo e sem a necessidade de refrigeração, diferente do leite fresco. Outro fator favorável para a utilização do leite desnatado UHT, é a desnaturação da proteína lactenina quando aquecida em alta temperatura; essa proteína é tóxica para os espermatozoides, mas importante por ser um bactericida natural no leite fresco e também presente no leite em pó que precisa ser aquecido antes de utilizado (MEIRELLES et al., 1998).

Para os espermatozoides, as proteínas do leite (caseínas e proteínas do soro) são de extrema importância, pois são responsáveis pela estabilização das membranas. Segundo HOCHACHKA (1986), elas agem inibindo o acúmulo de Ca^{2+} entre as células, quando se ligam com íons de Cálcio, evitando assim a toxicidade que seria prejudicial a membrana da célula espermática.

2.4.2 Gema de ovo

Da mesma forma que o leite, diluente a base de gema de ovo tem sido muito utilizada na criopreservação espermática em pequenos ruminantes. É classificada também como um crioprotetor não penetrante, pois não altera a membrana plasmática (MAIA, 2015).

A proteção da gema de ovo acontece pela ação de lipoproteínas que se ligam as membranas plasmáticas, protegendo assim no processo de criopreservação. Essa ligação das lipoproteínas com as membranas, restaura as perdas dos fosfolipídeos, que são responsáveis pela prevenção de ruptura das membranas. Com a diminuição da temperatura no processo de resfriamento, os lipídeos encontrados na gema do ovo, também fazem a função de proteção contra o choque térmico, inibindo a ação do Ca^{2+} , assim como ocorre com o leite (BISPO, 2009).

O uso da gema de ovo tem suas desvantagens. Quando utilizado como diluente, o meio celular se torna mais denso por ação das proteínas do ovo, o que acaba dificultando a visualização por meio do microscópico e a motilidade dos

espermatozoides. Além do motivo anterior, ele possui agentes microbiológicos, como o leite normal, contaminantes que podem alterar a qualidade e terem toxinas que prejudicam a ação fertilizante dos espermatozoides. (SANTOS et al., 2018).

2.5 Temperatura

A temperatura é um fator importante para a preservação dos espermatozoides, pois a mesma influencia diretamente na fertilidade. Na preservação de sêmen, são utilizadas duas técnicas onde há variação da temperatura: o congelamento e o resfriamento. A técnica de congelamento utiliza como agente o nitrogênio líquido e a preservação do sêmen é por tempo indeterminado. A técnica de refrigeração acontece quando os espermatozoides são conservados em temperaturas baixas (15°C a 5°C) diminuindo a ação do seu metabolismo, fazendo assim com que sua vida fértil seja mais duradoura. (BISPO, 2009).

A mudança rápida de temperatura pode trazer danos as membranas plasmáticas e acrossomal, o que afetará a motilidade e a fertilidade dos espermatozoides. Por esse motivo, o uso de diluentes é essencial nesse processo de diminuição de temperatura, pois preserva estruturas importantes das células espermáticas e ainda fornece suporte nutricional. (MAIA, 2015)

2.6 Avaliação Espermática

Nos mamíferos, a estrutura básica do espermatozoide é composta pela cabeça, onde estão os cromossomos e pelo flagelo, responsável pela movimentação (motilidade) (FAVARETO, 2008). Na avaliação do sêmen, as estruturas básicas dos espermatozoides são analisadas através da morfologia espermática, mas o volume, turbilhonamento, vigor, motilidade e concentração, devem ser considerados para a análise. É importante ressaltar que as características do sêmen podem variar de acordo com as raças e outros fatores, como a nutrição do animal (MAIA et al., 2011).

O volume nos carneiros varia de 0,5 a 2 ml, a variação ocorre pela idade do animal e pela escolha do método de colheita (AX et al., 2004). O turbilhonamento é caracterizado pela movimentação da massa de espermatozoides, é classificado de

1 (pobre) a 5 (excelente) (SILVA et al., 2012). O vigor é dado pela intensidade de deslocamento dos espermatozoides na amostra, sua escala vai de 0 (ausência de espermatozoides) a 5 (MIES FILHO, 1982). A motilidade é dada pela porcentagem de espermatozoides vivos (GALLEGO, 2010). A concentração nos carneiros varia entre 3,5 bilhões a 6 bilhões por ml (AX et al., 2004), quando dada em milhões a concentração é por mm^3 .

Segundo AX et al. (2004), a morfologia espermática tem uma classificação para os espermatozoides considerados anormais em: sem cauda, cabeças anormais, formações anormais da cauda, formações anormais da cauda com gota citoplasmática proximal e formações anormais da cauda com gota distal.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Centro de Manejo de Ovinos e Caprinos (CMO) da Universidade de Brasília (UNB), localizado na Fazenda Água Limpa (FAL) – Vargem Bonita – DF, no primeiro trimestre de 2021. Durante 10 semanas foram realizadas coletas do sêmen dos animais duas vezes por semana. Foram utilizados 3 carneiros adultos, um da raça Morada Nova, um cruzado Morada Nova X Santa Inês e um Dorper. O primeiro carneiro de aproximadamente 4 anos de idade e os outros dois de aproximadamente 2 anos de idade. A coleta de sêmen dos três animais era feita com o auxílio de vagina artificial e manequim. Foram realizadas oito coletas de cada reprodutor.

Os diluentes utilizados foram: leite UHT desnatado (I), leite UHT desnatado com adição de 5% de gema de ovo (II) e leite UHT desnatado com adição de 10% de gema de ovo (III). O total de cada diluente foi de 50 ml, que posteriormente foi dividido em tubos de 2ml (tipo eppendorf), sendo colocado 1,2ml em cada tubo devidamente identificado. Os tubos com os diluentes foram armazenados em freezer (-18°C), facilitando assim o uso durante o experimento e evitando mudanças na composição. Nos dias de coletas (terças e quintas), os diluentes eram retirados do freezer no início da manhã e descongelados em temperatura ambiente sendo depois aquecidos em placa aquecedora, antes de ser adicionado o sêmen.

Após a coleta era realizada a avaliação imediata do ejaculado: volume, aspecto, turbilhonamento (1-5), motilidade (%) e vigor (1-5). Eram separadas alíquotas para a concentração (20 microlitros de sêmen em 8 ml de água, concentração 1:400) e morfologia (utilizado 1ml de solução de formol salina). Depois da avaliação imediata, o ejaculado era distribuído nos diferentes diluentes. Era adicionado 300 microlitros de sêmen em cada tubo dos 3 diluentes, homogeneizado e então envasado em palhetas de 0,25ml (6 palhetas de cada diluente/carneiro) sendo distribuídas em temperatura ambiente e resfriadas (5°C, dispositivo móvel de refrigeração Botutainer® Botupharma, Botucatu, São Paulo, Brasil). Foi realizada uma avaliação imediata após a diluição em cada diluente, e após com 4h, 8h e 24h. Foram avaliados a motilidade e o vigor e logo após foi feito um esfregaço em cada tempo e de cada diluente para avaliar a presença do acrossomo. No laboratório os esfregaços eram fixados em metanol por 30 segundos, lavados em água corrente, secos e depois corados com Giemsa por 20 minutos. Depois de 20 minutos, o excesso do corante era eliminado, e o esfregaço era coberto com uma lamínula e lido em microscópio ótico em 1000X. Eram contadas 100 células e o resultado era dado em porcentagem.

Utilizou-se a estatística descritiva seguida pelo teste Komogorov-Smirnov de normalidade, e teste *t* não paramétrico seguido do teste Mann Whitney para comparação entre dois grupos. Utilizou-se o one-way ANOVA seguido do teste Kruskal-Wallis para a comparação entre mais de dois grupos no programa GraphPad Prism ® 9. Os dados estão expressos em média ± desvio padrão da média, e $P \leq 0.05$ considerado significativo.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Concentração em $\text{mm}^3 = A / 1/400 \times N/25 \times 1/10$, onde A= médias dos espermatozoides contados nos dois lados da câmara, 1/400 = concentração usada no experimento, N = número de quadrados contados, 1/10 = fator de profundidade da câmara. A média da concentração espermática no final das 8 coletas foi de: 2.497.000 espermatozoides/ mm^3 para o carneiro Morada Nova, 1.900.000 espermatozoides/ mm^3 para o cruzado Morada Nova X Santa Inês e 1.740.000 espermatozoides/ mm^3 para o Dorper. Todos os carneiros estão dentro dos valores e considerados como aptos para o uso, pois apresentaram concentração espermática acima de um milhão/ mm^3 (SILVA et al., 2011). Segundo SALOMON E MAXWELL (2000), citado por SILVA

(2013), recomendam concentração mínima de um milhão para a I.A utilizando o sêmen criopreservado.

O volume do ejaculado teve média de 1 ml (sendo coletado apenas o primeiro salto) e todos apresentaram aspecto cremoso.

Os resultados das análises do sêmen fresco logo após a coleta (turbilhonamento, motilidade e vigor) e posterior com a adição dos 3 diluidores (motilidade e vigor) são apresentados na tabela 1.

TABELA 1 - Médias de turbilhonamento, motilidade e vigor espermático no sêmen fresco sem diluição e no sêmen logo após adição dos diluentes.

	Sêmen fresco			Diluidor 1		Diluidor 2		Diluidor 3	
	Turb.	Mot.	Vigor	Mot.	Vigor	Mot.	Vigor	Mot.	Vigor
C1	4 ^A	83,1	4 ^A	78,1	3,9	81,2	3,6	78,1	3,8
C2	3,2	74,4	3,6	72,5	3,7	71,2	4	70,6	3,6
C3	3,3	80,6	3,9	75	3,7	75,6	3,7	74,4	3,7

Estatística descritiva seguida pelo teste Komogorov-Smirnov; teste-t não paramétrico, teste Mann Whitney. C1: carneiro Morada Nova, C2 carneiro cruzado e C3 carneiro Dorper, letras diferentes na mesma coluna indicam $p < 0,05$.

Nessa análise o carneiro 1, da raça Morada Nova, apresentou melhores resultados turbilhonamento e vigor no sêmen fresco ($p < 0,05$). Já quando o sêmen era diluído não houve diferença entre os 3 carneiros. Os resultados apresentados concordam com o trabalho de SILVA et al. (2011), que consideram os valores apresentados pelo sêmen de todos os carneiros como aprovados para o uso.

As Tabelas 2, 3 e 4 mostram os resultados do sêmen após a diluição de cada um dos carneiros, nos 3 horários de análises e nas duas temperaturas.

TABELA 2 - Médias de motilidade e vigor espermático apresentadas pelo carneiro Morada Nova nos 3 diluentes, 2 temperaturas e 3 tempos diferentes.

	Temperatura Ambiente						Temperatura 5°C					
	4 horas		8 horas		24 horas		4 horas		8 horas		24 horas	
D1	65,1 ^B	3,9 ^A	47,5	3,1 ^A	3,1 ^A	0,5 ^A	70	3,6 ^B	65	3,5 ^B	60,6	2,9
D2	78,7 ^A	4 ^A	41,9	3,1 ^A	0,6 ^B	0,12 ^B	78,7	4 ^A	75	3,9 ^A	70	3,1
D3	69,4 ^B	3,6 ^B	35	2,9 ^B	1,2 ^B	0,25 ^B	74,4	3,9 ^A	71,2	3,7 ^B	70,6	3,7

Estatística descritiva seguida pelo teste Komogorov-Smirnov; teste-t não paramétrico, teste Mann Whitney. D: diluente. D1 leite UHT, D2 leite UHT com 5% de gema de ovo e D3 leite UHT e 10% de gema de ovo. Letras diferentes na mesma coluna indicam $p < 0,05$.

Em temperatura ambiente na avaliação das 4h o sêmen do carneiro da raça Morada Nova, apresentou melhores resultados de motilidade no diluente 2 (leite + 5% de gema de ovo) e vigor nos diluentes 1 e 2 que foram superiores ao 3. No tempo de 8 horas não houve diferença na motilidade, mas o vigor foi superior nos diluente 1 e 2. Já em temperatura de 5C^o, não houve diferença da motilidade nos 3 momentos de avaliação. O vigor foi superior no diluente 2 e 3 às 4h e novamente às 8h o diluente 2 se mostrou superior.

TABELA 3 - Médias de motilidade e vigor espermático apresentadas pelo carneiro cruzado Morada Nova X Santa Inês nos 3 diluentes, 2 temperaturas e 3 tempos diferentes.

	Temperatura Ambiente						Temperatura 5°C					
	4 horas		8 horas		24 horas		4 horas		8 horas		24 horas	
	Mot.	Vigor	Mot.	Vigor	Mot.	Vigor	Mot.	Vigor	Mot.	Vigor	Mot.	Vigor
D1	65,6 ^A	3,4 ^A	48,1	3,1 ^A	8,1 ^A	1	58,7	3,4 ^B	61,9	3,2 ^C	60,6	3,2
D2	61,2 ^B	3,2 ^B	45	3 ^A	0 ^B	0	64,4	3,4 ^B	59,4	3,3 ^B	58,7	3,1
D3	63,1 ^A	3,5 ^A	41,9	2,9 ^B	0 ^B	0	65	3,6 ^A	60,6	3,4 ^A	60	3,2

Estatística descritiva seguida pelo teste Komogorov-Smirnov; teste-t não paramétrico, teste Mann Whitney. D: diluente. D1 leite UHT, D2 leite UHT com 5% de gema de ovo e D3 leite UHT e 10% de gema de ovo. Letras diferentes na mesma coluna indicam $p < 0,05$.

Nesta tabela é possível observar que os diluentes 1 e 3 tiveram os melhores resultados em temperatura ambiente no tempo de 4h tanto na motilidade quanto no vigor. Já às 8h, os diluentes 1 e 2 foram superiores ao 3. No resfriado, a motilidade foi semelhante entre os diluentes, e o vigor foi melhor para o diluente 3 tanto na avaliação das 4 como das 8h.

TABELA 4 - Médias de motilidade e vigor espermático apresentadas pelo carneiro Dorper nos 3 diluentes, 2 temperaturas e 3 tempos diferentes.

	Temperatura Ambiente						Temperatura 5°C					
			Tempos						Tempos			
	4 horas	8 horas	24 horas	4 horas	8 horas	24 horas	4 horas	8 horas	24 horas	4 horas	8 horas	24 horas
	Mot.	Vigor	Mot.	Vigor	Mot.	Vigor	Mot.	Vigor	Mot.	Vigor	Mot.	Vigor
D1	58,1	3	53,7	2,9	6,6 ^A	0,8	67,5	3,3	66,9	3,2 ^B	47,9	3 ^A
D2	60,6	3,2	54,4	2,9	1 ^B	0,4	66,2	3,4	66,2	3,3 ^A	51,2	3,2 ^A
D3	55,6	3,2	49,4	2,9	0,5 ^B	0,2	69,4	3,4	66,2	3,3 ^A	44,6	2,6 ^B

Estatística descritiva seguida pelo teste Komogorov-Smirnov; teste-t não paramétrico, teste Mann Whitney. D: diluente. D1 leite UHT, D2 leite UHT com 5% de gema de ovo e D3 leite UHT e 10% de gema de ovo. Letras diferentes na mesma coluna indicam $p < 0,05$.

Os dados desta tabela apresentam o carneiro da raça Dorper e mostram que em temperatura ambiente os diluentes se comportaram de forma semelhante. Já quando resfriado, os diluentes 2 e 3 apresentaram melhores resultados de vigor às 8h e às 24h o 1 e 2 foram superiores ao 3.

Nas tabelas 2, 3 e 4 é possível verificar que na temperatura ambiente, no tempo de 24h, o sêmen diluído fica inviável, apesar de apresentar diferenças.

A motilidade e o vigor apresentaram diferenças significativas, entre os carneiros, tempos e temperaturas, mas os valores finais indicam padrão satisfatório para o uso do sêmen dos carneiros. Segundo BARTH (2007), citado por AHMAD et al. (2015), a motilidade tem que ser no mínimo de 30% para alcançar um nível aceitável de fertilização.

O sêmen diluído resfriado se mostrou superior quando comparado ao mantido em temperatura ambiente. SILVA et al. (2010), relataram que a temperatura ambiente de 27°C causa alterações prejudiciais nos espermatozoides. No presente experimento foi possível observar este fato na avaliação das 24h.

Nas tabelas 5, 6 e 7 estão apresentados dados referentes as médias de acrossomas presentes nos esfregaços realizados nos diferentes diluentes, tempos e temperaturas.

TABELA 5 - Médias de acrossomas presentes no esfregaço espermático do carneiro Morada Nova nos 3 diluentes, 2 temperaturas e 3 tempos diferentes.

	Temperatura Ambiente			Temperatura 5°C		
	Tempos			Tempos		
	4 horas	8 horas	24 horas	4 horas	8 horas	24 horas
D1	93,5 ^B	92,6 ^A	92 ^A	93,4 ^B	90,4	92,5
D2	92,7 ^B	91,7 ^B	90,9 ^B	93,9 ^B	91	91,4
D3	95 ^A	91,9 ^B	92,1 ^A	95,5 ^A	91,7	92,1

Estatística descritiva seguida pelo teste Komogorov-Smirnov; teste-t não paramétrico, teste Mann Whitney. D: diluente, letras diferentes na mesma coluna indicam $p < 0,05$.

TABELA 6 - Médias de acrossomas presentes no esfregaço espermático do carneiro cruzado Morada Nova X Santa Inês nos 3 diluentes, 2 temperaturas e 3 tempos diferentes.

	Temperatura Ambiente			Temperatura 5°C		
	Tempos			Tempos		
	4 horas	8 horas	24 horas	4 horas	8 horas	24 horas
D1	95,6 ^B	93, ^B	93 ^A	92,9	93,9 ^B	92,6
D2	97,1 ^A	95,5 ^A	91,9 ^B	95,4	95,6 ^A	94,5
D3	96,1 ^B	95,4 ^A	92,2 ^B	95,6	95,5 ^A	93,9

Estatística descritiva seguida pelo teste Komogorov-Smirnov; teste-t não paramétrico, teste Mann Whitney. D: diluente, letras diferentes na mesma coluna indicam $p < 0,05$.

TABELA 7 - Médias de acrossomas presentes no esfregaço espermático do carneiro Dorper nos 3 diluentes, 2 temperaturas e 3 tempos diferentes.

	Temperatura Ambiente			Temperatura 5°C		
	Tempos			Tempos		
	4 horas	8 horas	24 horas	4 horas	8 horas	24 horas
D1	95,4	94 ^B	94,2 ^B	95,1 ^A	96 ^B	95,1
D2	97	97,2 ^A	94,5 ^A	96 ^A	97,2 ^A	95,7
D3	96,6	95,7 ^B	94,6 ^A	94,7 ^B	96,5 ^B	95

Estatística descritiva seguida pelo teste Komogorov-Smirnov; teste-t não paramétrico, teste Mann Whitney. D: diluente, letras diferentes na mesma coluna indicam $p < 0,05$.

No carneiro 1 (tabela 5), o diluente 3 (leite + 10% de gema de ovo) apresentou o melhor resultado entre as médias em temperatura ambiente às 4h. Já na avaliação das 8 e 24h, o diluente 1 e 3 tiveram melhores resultados. Quando o sêmen era resfriado só houve diferença às 4h, onde o diluente 3 apresentou diferença.

Na tabela 6 é possível verificar que o diluente 2 (leite + 5% de gema de ovo) apresentou melhores resultados em temperatura ambiente às 4 e 8h e no resfriado às 8h. Nas 24h ambiente o diluente 1 foi melhor. Assim como no carneiro 2, o diluente 2 também se destacou no carneiro 3 (tabela 7). Foi superior em temperatura ambiente nas 8 e 24h e no resfriado nos tempos 4 e 8h. Nessa análise os diluentes compostos por gema de ovo apresentaram melhores resultados quando comparado ao diluente composto somente por leite.

Os percentuais elevados de acrossomas presentes indicam que os diluentes apresentaram proteção adequada à preservação da membrana espermática

independente da temperatura. O processo de resfriamento pode causar alterações nas membranas espermáticas e nos acrossomas, como explicou MAIA (2015), e o uso de diluentes com gema de ovo e a diminuição da temperatura de forma gradual pode evitar essas alterações nos espermatozoides preservando suas estruturas.

Também foi possível observar que existe diferença de resistência espermática entre os carneiros, o que pode ter sido influenciado pela raça, já que foram utilizadas 3 raças diferentes. CUNHA et al.. (2017), obtiveram em seus estudos significância na concentração espermática entre carneiros de raças diferentes. A diferença de resistência espermática entre as raças pode ser vista através dos parâmetros seminais (volume, concentração, motilidade, vigor, acrossomas), alguns autores explicam que essas diferenças estão mais relacionadas ao diâmetro testicular do que na variação genética existente entre as raças. Outros relatam essas diferenças espermáticas em diferentes épocas do ano (SILVA & NUNES, 1984; MAIA et al, 2011; SILVA, 2014; FRAZÃO SOBRINHO et al., 2014).

5 – CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, é possível concluir que diluentes de baixo custo e fácil preparo conseguem manter a viabilidade espermática em ovinos.

Em se tratando do sêmen mantido em temperatura ambiente, o diluente composto somente de leite UHT mantém a viabilidade adequada até 8h. Quando a opção é resfriar o sêmen, este diluente consegue manter a viabilidade por 24h. Se for adicionado 5% de gema de ovo melhora a condição do sêmen resfriado.

Para o pequeno produtor, o uso de diluentes baratos como o leite e gema de ovo é uma alternativa para a possibilidade de disseminação e compartilhamento de uma boa genética, diminuindo o custo da produção e garantindo o aumento da qualidade do rebanho e de produtividade.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, M., AHMAD, N., RIAZ, A., & ANZAR, M. Sperm survival kinetics in different types of bull semen: progressive motility, plasma membrane integrity, acrosomal status and reactive oxygen species generation. **Reproduction, fertility and development**, v. 27, n. 5, p. 784-793, 2015.
- AX, R. L; DALLY, M. R; DIDION, B. A; LENZ, R. W; LOVE, C. C; VARNER D. D; HAFEZ, B. & BELLIN, M. E. Avaliação do Sêmen. *In*: HAFEZ, E. S. E; HAFEZ, B. (org.). **Reprodução Animal**. 7. ed. Manole, São Paulo, 2004. p.369.
- BARROS, F. N., DE SÁ, P. N. C., DA SILVA BARÇANTE, F. P., CASTELO BRANCO, M.A., DE SOUSA FILHO, M. A. C., BARROS, D.A., LOPES NETO, B.O. & DE SOUZA, J. A. T. Adição do Ácido Fólico na criopreservação de sêmen ovino da raça Santa Inês. **R. bras. Reprod. Anim.**, Teresina, p. 317-319, 2016.
- BARTH, A. D. Evaluation of potential breeding soundness of the Bull. In '**Current Therapy in Large Animal Theriogenology 2**'. (Eds R.S. Youngquist and R.W. Threlfall.) pp. 228–240. (Saunders Elsevier: Philadelphia.), 2007.
- BICUDO, S. D.; AZEVEDO, H. C.; SILVA MAIA, M.S.; SOUSA, D. B.; RODELLO, L. Aspectos Peculiares da Inseminação Artificial em Ovinos. **Acta Scientiae Veterinariae**. V. 33, suplemento 1, p. 127-130, 2005.
- BISPO, C. A. S. **Fertility of cooled or frozen goat sêmen in different concentrations of egg yolk in sêmen extender**. 110 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Animais Domésticos; Nutrição e Alimentação Animal; Pastagens e Forragicul) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.
- BITTENCOURT, R. F., OBA, E., RIBEIRO FILHO, A. D. L., CHALHOUB, M., AZEVEDO, H. C., & BICUDO, S. D.. Avanços na criopreservação do sêmen ovino I: diluidores e crioprotetores. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 14, n. 4, p. 522-536, 2013.
- Boletim do Centro de Inteligência e Mercado de Caprinos e Ovinos [recurso eletrônico - n. 9, (out. 2019) – Dados eletrônicos. Sobral, CE : **Embrapa Caprinos e Ovinos**, 2019. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/202493/1/CNPC-2019-Boletim-CI-n9.pdf>> Acesso em 04 de Abril de 2021.
- CARVALHO, F. P., SILVA, J. F. S., DE SOUZA, G. V., QUIRINO, C. R., & DE CARVALHO, C. S. P.. Diferentes diluentes sobre a motilidade e integridade de membrana plasmática após o congelamento e descongelamento de sêmen ovino. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 9, n. 3, 2008.
- CASTILHO, E. F. D., GUIMARÃES, J. D., MARTINS, L. F., PINHO, R. O., GUIMARÃES, S. E. F., & ESPESCHIT, C. J. B.. Uso de própolis e ácido ascórbico na criopreservação do sêmen caprino. **Revista brasileira de zootecnia**, v. 38, n. 12, p. 2335-2345, 2009.

CAVALCANTE, J. M. M., BRASIL, O. O., SALGUEIRO, C. C. D. M., SALMITO-VANDERLEY, C. S. B., & NUNES, J. F.. Criopreservação do sêmen ovino em meio diluente à base de água de coco em pó (ACP-102c). **Ciência animal brasileira**, v. 15, n. 3, p. 344-353, 2014.

CHIRINÉA, V. H., MARTINS, M. I. M., SOUZA, F. F. DE., TEBET, J. M., PAPA, F. O., & LOPES, M. D.. Características morfofuncionais do sêmen canino refrigerado e congelado, usando dois diferentes meios diluentes. **Ciência Animal Brasileira**, 7(4), 407–415, 2006.

COELHO, M. M. P. **Inseminação artificial por videolaparoscopia em ovinos: proposição de uma técnica anestésica**. 45 f. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) - Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2017.

CRUZ JÚNIOR, C. A. **Tolerância ao calor em ovinos reprodutores criados no Distrito Federal**. 2011. 95 f. il. Tese (Doutorado em Ciência Animal)—Universidade Brasília, Brasília, 2012.

CSEH, S., FAIGL, V., AMIRIDIS G.S. Semen processing and artificial insemination in health management of small ruminants. **Animal reproduction science**, v. 130, n. 3-4, p. 187-192, 2012.

CUNHA, S., PEREIRA, V. D. A., ALENCAR, M. M., MACHADO, R., MIGUEL, M., GARCIA, A., ... & THOLON, P. Parâmetros seminais de machos ovinos de diferentes grupos genéticos. In: **Embrapa Pecuária Sudeste-Resumo em anais de congresso (ALICE)**. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO ANIMAL, 12., 2017, Ribeirão Preto, SP. Anais... Sertãozinho: SBMA, 2017., 2017. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/1079891>> Acesso em: 03 maio. 2021.

FAVARETO, A. P. A. **Imunolocalização e quantificação da proteína SP22 em espermatozoides de ovinos e sua relação com outros parâmetros espermáticos**. 93f. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, Campinas, SP, 2008.

FISCHER NETO, A. Aplicação comercial das biotécnicas reprodutivas em ovinos. **Revista Brasileira Reprod. Anim.**, p. 182-186, 2009.

FONSECA, J. F. Biotecnologias da reprodução em ovinos e caprinos. **Embrapa Caprinos e Ovinos-Documentos (INFOTECA-E)**, Sobral, 2006. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/533329/1/doc64.pdf>. Acesso em: 22 mar. 2021.

FRAZÃO SOBRINHO, J. M., CASTELO BRANCO, M. A., SOUSA JÚNIOR, A., NASCIMENTO, I. M. R., MOTA, L. H. C. M., CARVALHO, Y. N. T., FERREIRA, S. B., COSTA, D. N. M., MORAES JÚNIOR, F. J., SOUZA, J. A. T. Características do sêmen de carneiros Dorper, Santa Inês e sem padrão racial definido, pré e pós-congelação, nos períodos chuvoso e seco. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 4, p. 969-976, 2014.

GALLEGO, A. M. **Avaliação das características da motilidade (CASA), morfologia e funcionalidade da membrana plasmática (HOST) de espermatozoides bovinos sexados por cimetria de fluxo.** (Tese de Doutorado). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

HOCHACHKA, P. W. Defense strategies against hypoxia and hypothermia. **Science**, v. 231, n. 4735, p. 234-241, 1986.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. Pesquisa Pecuária Municipal, 2018/2019. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939#resultado>> Acesso em 03 abr. 2021.

KERSHAW, C. M., KHALID, M., MCGOWAN, M. R., INGRAM, K., LEETHONGDEE, S.; WAX, G. & SCARAMUZZI, R. J. The anatomy of the sheep cervix and its influence on the transcervical passage of an inseminating pipette into the uterine lumen. **Theriogenology**, 64, 1225-1235, 2005.

MAGALHAES, K., HOLANDA FILHO, Z. F., MARTINS, E.; & de LUCENA, C. C. Caprinos e ovinos no Brasil: análise da Produção da Pecuária Municipal 2019. **Embrapa Caprinos e Ovinos-Nota Técnica/Nota Científica (ALICE)**, Sobral, 2020. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1128480/1/CNPC-2020-BCIM-n11.pdf>> Acesso em: 21 mar. 2021.

MAIA, M. D. S. Tecnologia de sêmen e inseminação artificial em caprinos e ovinos. In: **Embrapa Semiárido-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: CONGRESSO PERNAMBUCANO DE MEDICINA VETERINÁRIA., 6.; SEMINÁRIO NORDESTINO DE CAPRINO-OVINOCULTURA, 7., 2015, Recife. Saúde animal e produção sustentável no Nordeste: desafios e inovações tecnológicas. Recife: CRMV-PE: SPEMVE, 2015., 2015. Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1025585>> Acesso em: 10 de abr. 2021.

MAIA, M. D. S., MEDEIROS, I. M., & LIMA, C. A. C. Características reprodutivas de carneiros no Nordeste do Brasil: parâmetros seminais. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 35, n. 2, p. 175-179, 2011.

MEIRELLES, L. S., MALSCHITSKY, E., NEVES, A. P., VIEIRA, M. J., KELLER, A., HOTT, A. K., DE MORAES, I. M. A., GARBADE, P., GREGORY, R. M., MATTOS, R. C. Leite em pó desnatado não inativado e leite desnatado uht para preservação e fertilidade do sêmen equino resfriado. **Cienc. Rural**, Santa Maria , v. 28, n. 3, p. 467-470, set. 1998 .

MIES FILHO, A.; PUGA, J.M.P. ; JOBIM, M.I.M.; GREGORY, R.M.; WALD, V.B. **Proposição de normas ao exame andrológico de *Bos taurus*.** R. Bras. Reprod. Anim., 6:21-4, 1982.

QUESADA, M., MCMANUS, C., & COUTO, F. A. D. Efeitos genéticos e fenotípicos sobre características de produção e reprodução de ovinos deslançados no Distrito Federal. **Revista brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 1, p. 342-349, 2002.

RODRIGUES, J. L.; DE ÁVILA RODRIGUES, B. Evolução da biotecnologia da reprodução no Brasil e seu papel no melhoramento genético. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 56, n. 4, p. 428-436, 2009.

SALOMON, S.; MAXWELL, W. M. C. Storage of ram semen. **Animal Reproduction Science**, v.62, p. 77-111, 2000.

SANTOS, B. M. B., BRITO, B. F., MAIA, L. C. P., PIRES, R. S. D. C., SALGUEIRO, C. C. D. M., & NUNES, J. F., Congelação do sêmen de pequenos ruminantes sem uso de gema de ovo utilizando bases vegetais em substituição à gema de ovo. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 42, n. 3-4, p. 96-100, 2018.

SILVA, A.E.D.F, NUNES J.F. Estacionalidade na atividade sexual e qualidade do sêmen nos ovinos deslançados das raças Santa Inês e Somalis. **Rev Bras Reprod Anim**, v.8, p.207-214, 1984.

SILVA, G. G., SEGUI, M. S., KOZICKI, L. E., GAIEVSKI, F. R., WEISS, R. R., & BERTOL, M. A. F. Algumas características físicas do sêmen de *Bos taurus taurus* colhidos na primavera e no verão e sua relação com a idade dos animais. Physical characteristics of *Bos taurus taurus* semen collected during the spring and summer and their relation with animal age. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, v. 10, n. 1, p. 91-97, 2012.

SILVA, J.C. **Cryopreservation of ram semen with different sperm concentrations with or without ascorbic acid**. 66 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Animais Domésticos; Nutrição e Alimentação Animal; Pastagens e Forragicultura) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.

SILVA, N. M. M., ELOY, A., SANTOS, D. O., FURTADO, J. R., SILVA, N. M., & DUARTE, S. S.. Avaliação dos parâmetros espermáticos de ovinos da raça Morada Nova. In: **Embrapa Caprinos e Ovinos-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: ZOOTECA NA AMAZÔNIA LEGAL, 1.; CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECA, 20., 2010, Palmas. Sustentabilidade e produção animal. Araguaiana: Universidade Federal de Tocantins: Associação Brasileira de Zootecistas, 2010. 4 f. Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/877392>> Acesso em: 30 de abr. 2021.

SILVA, S. V., SOARES, A. T., BATISTA, A. M., ALMEIDA, F. C., & GUERRA, M. M. P. Interferência da condição climática na integridade de espermatozoides ovinos submetidos à criopreservação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 6, p. 1309-1314, 2011.

SILVA, T. A. de S. N. **Proteínas do plasma seminal e sua influência sobre a criopreservação espermática em ovinos**. 2014. xviii, 77 f., il. Tese (Doutorado em Ciências Animais) - Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

SIMPLÍCIO, A. A., FREITAS, VJ de F., DA FONSECA, J. F. Biotécnicas da reprodução como técnicas de manejo reprodutivo em ovinos. **Embrapa Caprinos e Ovinos-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2007. Disponível em:

<<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/532668>> Acesso em: 21 de mar. 2021.

SOUZA, E. Q. **Análise e segmentação de mercado na ovinocultura do Distrito Federal**. 2006. 103f. 2006. Tese de Doutorado. Dissertação (Mestrado em Agronegócios) - Universidade de Brasília, Brasília.

VIANA, J. G. A. Panorama geral da ovinocultura no mundo e no Brasil. **Revista Ovinos**, Porto Alegre, v. 4, n. 12, p. 44-47, 2008.

VIANA, J. H. M., SIQUEIRA, L. G. B., PALHÃO, M. P., CAMARGO, L. D. A Use of in vitro fertilization technique in the last decade and its effect on Brazilian embryo industry and animal production. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 38, n. 2, p. 661-674, 2010.