

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA ANIMAL - EQUINOS
LABORATÓRIO DE REPRODUÇÃO ANIMAL – REPROLAB

ASPECTOS BIOMÉTRICOS E HISTOLÓGICOS DE TESTÍCULOS DE
GARANHÕES DA RAÇA CRIOLA

LUCIANA QUADRADO MENDES

PORTO ALEGRE

2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA ANIMAL - EQUINOS
LABORATÓRIO DE REPRODUÇÃO ANIMAL – REPROLAB

ASPECTOS BIOMÉTRICOS E HISTOLÓGICOS DE TESTÍCULOS DE
GARANHÕES DA RAÇA CRIOULA

LUCIANA QUADRADO MENDES

Dissertação apresentada como
requisito parcial para a obtenção do
Título de Mestre em Ciências
Veterinárias na área de Reprodução
em equinos.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo
Macedo Gregory

PORTO ALEGRE

2012

CIP - Catalogação na Publicação

Quadrado Mendes, Luciana
Aspectos Biométricos e Histológicos de Testículos
de Garanhões da Raça Crioula / Luciana Quadrado
Mendes. -- 2012.
31 f.

Orientador: Ricardo Macedo Gregory.
Coorientador: Rodrigo Costa Mattos.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária,
Programa de Pós-Graduação em Medicina Animal: Equinos,
Porto Alegre, BR-RS, 2012.

1. Biometria testicular equinos. I. Macedo
Gregory, Ricardo, orient. II. Costa Mattos, Rodrigo,
coorient. III. Título.

Luciana Quadrado Mendes

ASPECTOS BIOMÉTRICOS E HISTOLÓGICOS DE TESTÍCULOS DE GARANHÕES
DA RAÇA CRIOLA

Aprovada em 7 MAR 2012

APROVADO POR:

Prof. Dr. Ricardo Macedo Gregory

Orientador e Presidente da Comissão

Prof. Dr. Claudio Alves Pimentel

Membro da Comissão

Prof. Dr. Rodrigo Costa Mattos

Membro da Comissão

Prof. Dr. Eduardo Malschitzky

Membro da Comissão

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me dar saúde suficiente para alcançar meus objetivos, por me dar uma família linda e amigos que me ajudam sempre que preciso.

Á minha mãe que me acompanhou nas viagens para coleta de material além de organizar-los no meio da correria.

Á minha irmã Anaí e meu primo Roger que me ajudaram, sem medir esforços, quando precisei.

Ao meu noivo pela compreensão e ajuda nas horas que somente ele poderia resolver.

Ao meu orientador Prof. Ricardo Macedo Gregory pela oportunidade de cumprir mais esta etapa, pela paciência nas horas difíceis.

Ao Prof. Rodrigo Mattos pelas dicas e compreensão nas horas que precisei.

Ás Professoras da Anna Telles e Concepta McManus pela colaboração ao trabalho.

Aos colegas da UFRGS que de uma forma ou de outra me ajudaram na conclusão do mestrado.

Á colega de graduação Antonella que me ajudou com muita paciência.

Enfim, agradeço á todos aqueles que de uma forma ou de outra me ajudaram a concluir este trabalho e passar por mais uma etapa importante em minha vida.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar as informações relativas á idade aspectos físicos, como condição corporal (CC), peso corporal (PC), peso do testículo esquerdo (PTE) e direito (PTD), volume testicular (VT), largura testicular esquerdo (LAR), comprimento testicular (COMP), altura testicular (ALT), assim como concentração plasmática de testosterona (TES), além da presença de espermatozóides nos túbulos seminíferos (ETS), para analisar possíveis correlações entre estas variáveis em garanhões da raça Crioula. Por outro lado, realizou-se uma avaliação histológica quanto a presença ou ausência de espermatozóides nos túbulos seminíferos em diferentes idades como também os níveis séricos de testosterona. Estas avaliações foram correlacionadas entre si e foi avaliadas as médias das variáveis por grupo de idades que variaram de 1 a 4 anos. Foram utilizados 70 animais de diferentes regiões do Rio Grande do Sul. A CC média no momento da orquiectomia foi de 3,37, enquanto o PC encontrado foi de 322,53+/-63,79 kg. Quanto ao testículo esquerdo com o epidídimo, o PT médio foi 122,83+/-72,88 g, após a remoção do epidídimo houve uma redução no peso para de 87,77+/-59,74g. O VT foi de 57,89+/-31,19 mL. A LAR encontrada 37,19+/-12,40 mm ao passo que o COMP foi de 67,81+/-17,34 mm e a ALT foi de 37,29+/-11,50 mm. Em relação ao testículo direito, com a presença do epidídimo, foi verificado o seguinte peso médio:105,52g+/-71,51g. Após a remoção do epidídimo, para o PT, encontrou-se 76,21+/-64,99g, VT 51,42+/-4,11mL, a LAR foi de 34,97+/-13,25mm, COMP foi de 63,94+/-19,45mm e a ALT 34,50+/-12,21mm. A concentração média de TES dosada foi de 98,25 +/- 122,87 ng/ml de plasma. Em 77,14% dos 35 cortes histológicos realizados, foram encontrados espermatozóides na luz dos túbulos seminíferos.

Palavra Chave: eqüinos , biometria testicular, testosterona, túbulos seminíferos.

ABSTRACT

The aim this study was to evaluate age and physical aspects, such body condition (CC), body weight (PC), left testicle weight (PTE), right testicle weight (PTD), testicular volume (VT), testicular width (LAR) testicular length (COMP), testicular height (ALT) and plasma testosterone levels (TES), and the presence of spermatozoa in the seminiferous tubules (ETS) related information, to analyze possible correlations between these variables in stallions from the Crioulo breed. Moreover, the histological evaluation was made for the presence of spermatozoa in the seminiferous tubules in ages different and plasma testosterone levels. These evaluations were correlated and variables means of the age group (age 1 to 4). Seventy animals were used from different regions of Rio Grande do Sul, in age ranging from 375 to 1579 days (average of 777.94 days). The CC average at the time of orchiectomy was 3.37, while the PC found was 322.53 \pm 63.79 kg. As regards the left testicle with the epididymis, the PTE average was 122.83 \pm 72.88 g and after the removal of the epididymis there was a reduction to 87.77 \pm 59.74 g. The VOL was 57,89 \pm 31,19 mL. The LAR found was 37.19 \pm 12.40 mm whereas the COMP was 67.81 \pm 17.34 mm and ALT was 37.29 \pm 11.50 mm. In relation to the right testicle, with the presence of the epididymis, was observed the following average: 105.52 \pm 71.51 g. After the removal of epididymis, for the PTD, it was found 76.21 \pm 64.99 g, VOL 51,42 \pm 4,11mL, the LAR was 34.97 \pm 13.25 mm, COMP was 63, 94 \pm 19.45 mm and ALT 34.50 \pm 12.21 mm. The average concentration of TES assayed was 98.25 \pm 122.87 ng / ml of plasma. In 77.14% of the 35 histological slices done, spermatozoa were found in the lumen of the seminiferous tubules.

Keywords: *crioulo stallions, age, body weight, testicular biometrics, testosterone.*

LISTA DE TABELAS

TABELA 1-	Média e erro padrão de Idade, Peso Corporal (PC) e de Concentração de Testosterona (TEST) e Porcentual de Presença de Espematozóides nos Túbulos Seminíferos (ETS).....	22
TABELA 2-	Idade, Peso Testículo esquerdo com (PTECE) e sem epididímo (PTESE), Volume (VOLTE), Largura (LARTE), Comprimento (COMTE) e Altura (ALTE).....	23
TABELA 3-	Idade, Peso Testículo direito com (PTDCE) e sem Epidídimo (PTDSE), Volume (VOLTD), Largura (LARTD), Comprimento (COMTD) e Altura (ALTD).....	23
TABELA 4-	Correlações entre Idade, Peso Corporal (PC), Concentração Plasmática de Testosterona e Presença de Espermatozóides nos Túbulos Seminíferos (ETS).....	24
TABELA 5-	Correlações entre Idade e Peso dos animais e Idade, Peso Testículo esquerdo com (PTECE) e sem epididímo (PTESE), Volume (VOLTE), Largura (LARTE), Comprimento (COMTE) e Altura (ALTE).....	24
TABELA 6-	Correlações entre Idade e Peso dos animais e, Idade, Peso Testículo direito com (PTdCE) e sem epididímo (PTDSE), Volume (VOLTD), Largura (LARTD), Comprimento (COMTD) e Altura (ALTD).....	25

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABCCC	Associação Brasileira de Criadores de Cavalos Crioulos
ALT	Altura testicular
ALTD	Altura do testículo direito
ALTE	Altura do testículo esquerdo
ANOVA	Análise de Variância
CC	Condição Corporal
COMP	Comprimento testicular
COMTD	Comprimento testicular direito
COMTE	Comprimento testicular esquerdo
DSP	Produção espermática diária
EDTA	Ácido Etilenodiaminotetracético
ETS	Presença de espermatozóides nos túbulos seminíferos
GnRH	Hormônio Liberador de Gonadotrofina
gr	gramas
HE	Hematoxilina-eosina
IdadeD	Idade em dias
IGS	Índice Gonadossomático
K2	Potássio
LAR	Largura testicular
LARTD	Largura do testículo direito
LARTE	Largura do testículo esquerdo
mg	miligramas
mL	mililitros
mm	milímetros
PC	Peso Corporal
PTD	Peso do testículo direito
PTDSE	Peso do testículo direito sem epidídimo

PTE	Peso do testículo esquerdo
PTESE	Peso do testículo esquerdo sem epidídimo
TES	níveis séricos de testosterona
VOLTD	Volume testicular direito
VOLTE	Volume testicular esquerdo
VT	Volume testicular

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1	O Cavalo Crioulo.....	12
2.2	Idade.....	12
2.3	Nutrição.....	13
2.4	Biometria Testicular.....	13
2.5	Histologia.....	15
2.6	Testosterona.....	16
3	ARTIGO: Aspectos Biométricos e Histológicos de Testículos de Garanhões da Raça Crioula.....	17
3.1	Introdução.....	18
3.2	Materiais e Métodos.....	20
3.2.1	Biometria testicular.....	20
3.2.2	Histologia.....	21
3.2.3	Concentração de Testosterona.....	21
3.2.4	Análise Estatística.....	21
3.3	Resultados.....	22
3.4	Discussão.....	25
3.5	Referências.....	26
	REFERÊNCIAS.....	28

1 INTRODUÇÃO

O cavalo crioulo tem sua origem na população eqüina da península ibérica, mais precisamente nos territórios de Portugal e Espanha do século XV. Tem pelo menos quatro mil anos de história e é conhecida como uma raça guerreira. Sofreu grande influência dos cavalos trazidos do norte da África pelos mouros que estiveram presentes, na península ibérica, por oito séculos. Eram conhecidos pela valentia e resistência. A partir da chegada de Colombo na América, em 1492, várias foram as expedições espanholas que trouxeram estes cavalos para o novo continente (ABCCC).

A partir do século XVII, muitos cavalos foram perdidos ou abandonados ao acaso. Os crioulos, da forma como hoje são conhecidos, ficaram concentrados, principalmente, no sul da América, onde hoje está a Argentina, Uruguai, Chile, Paraguai e o sul do Brasil. Durante cerca de quatro séculos, a raça crioula foi forjada através da seleção natural. Em meados do século XIX, após este período evolutivo, os fazendeiros do sul da América começaram a tomar consciência da importância e da qualidade dos cavalos crioulos que vagavam por suas terras. Esta nova raça, bem definida e com características próprias, passou a ser preservada desde então, vindo a ganhar notoriedade mundial a partir do século XX, quando várias associações foram criadas e, através delas, o valor do cavalo crioulo foi exaltado e comprovado (ABCCC).

Deve-se ressaltar ainda, a escassez de trabalhos científicos com esta raça, O mercado, assim como a indústria do cavalo por si, justifica a realização de pesquisas na área. Esta é uma atividade que envolve diferentes segmentos da sociedade, com significativo impacto econômico.

Rebanhos detentores de elevada precocidade sexual e fertilidade possuem maior disponibilidade de animais, tanto para venda como para seleção, permitindo maior intensidade seletiva e, conseqüentemente, progressos genéticos mais elevados (PIMENTEL et al., 2010).

Diante deste crescimento e expansão da raça Crioula, a carência de informações a respeito do desenvolvimento biométrico e morfológico dos testículos de garanhões enseja mais investigações sobre o assunto, especialmente, na busca de critérios de seleção objetivos buscando indivíduos de maior potencial de fertilidade.

Dentre os parâmetros a serem avaliados na escolha de um reprodutor, como também em uma avaliação andrológica, a biometria testicular é um parâmetro importante, podendo inclusive, auxiliar na predição do potencial reprodutivo (CANISSO et al., 2008).

Levando em consideração pesquisas feitas em bovinos quando da seleção de reprodutores, características como o volume e simetria testicular, são considerados de suma importância (UNANIAN et al. 2000).

Dentre as características de fertilidade, o perímetro escrotal tem sido utilizado com vistas ao aprimoramento da eficiência reprodutiva dos rebanhos bovinos, em função da sua herdabilidade ser de média a alta, e por haver evidências de correlações positivas com características reprodutivas em machos (PIMENTEL et al., 2010).

Existem diversos fatores limitantes para o desenvolvimento testicular, sendo a nutrição um dos com forte influência. Em um estudo no qual garanhões alimentados desde potros, com aproximadamente 50% das exigências nutricionais normais apresentaram testículos menores e, por conseqüência menor produção espermática do que aqueles alimentados adequadamente (AURICH et al., 2005).

Com objetivo de avaliar informações relativas à idade e aspectos físicos como, condição e peso corporal como também peso, volume, largura, comprimento e altura dos testículos, assim como níveis séricos de testosterona e presença de espermatozóides na luz dos túbulos seminíferos e então analisar as possíveis correlações entre as variáveis, resolveu-se realizar este experimento.

REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O Cavalo Crioulo

O cavalo crioulo na América do Sul foi introduzido pelos conquistadores espanhóis. Estes animais pela disposição das colônias, com longas extensões de campos e sem limites de cercas, acabaram se dispersando. Começaram, então, a se desenvolver de forma selvagem, resultando nos animais que constituíram o tronco sul americano da raça Crioula (AFFONSO & CORREA, 1992).

O cavalo Crioulo passou por um processo de seleção natural por quatro séculos, o que resultou, em uma forte adaptação ao meio ambiente do continente sul americano, dando aos cavalos espanhóis trazidos à América, caracteres próprios de rusticidade e resistência (SOLANET, 1946).

A rusticidade do cavalo crioulo está diretamente ligada a duas outras características: à fertilidade e à longevidade, sendo esses atributos essenciais na determinação de boas condições de produtividade. A alta produtividade da raça Crioula tem sido atribuída à seleção natural que estes animais sofreram (FREITAS et al., 2005).

2.2 Idade

A partir do início da puberdade inicia-se o desenvolvimento dos órgãos reprodutivos, porém a maturidade sexual pode apresentar variação significativa. Há relatos da presença de espermatozóides a partir de um ano de idade em testículos de eqüinos, segundo Swierstra et al. (1974) entretanto a maturidade sexual leva aproximadamente dois anos para ser atingida (HONDO et al., 1998).

O tamanho e a concentração das células de Sertoli e Leydig assim como a capacidade espermatogênica dos testículos aumenta no garanhão até uma idade aproximada de quatro a cinco anos de idade (AURICH et al., 2005).

Segundo Blanchard et al. (2001), em um estudo avaliando o tamanho e função testicular em garanhões de 1 a 3 anos de idade, mostra que existe uma variação considerável na produção espermática em garanhões com semelhante tamanho testicular. Demonstrou também que o peso testicular foi positivamente correlacionado com o potencial DSP.

2.3 Nutrição

Existem diversos fatores limitantes para o desenvolvimento testicular, sendo a nutrição um dos com forte influência. Em um estudo no qual garanhões alimentados desde potros, com aproximadamente 50% das exigências nutricionais normais apresentaram testículos menores, e por conseqüência menor produção espermática que aqueles alimentados adequadamente (AURICH et al., 2005).

Em um estudo em touros da raça Nelore e cruzados Nelore-europeu, foram encontradas maiores circunferências escrotais nos cruzados com alta correlação entre circunferência escrotal e peso corporal (VALENTIN et al., 2002.).

Das e Sarkar (2004) estudando as relações entre os parâmetros testiculares e peso corporal em 24 touros adultos, revelaram que existem diferenças significativas nos parâmetros testiculares em 3 grupos etários com menos de 5 anos e no peso corporal entre todos os grupos etários. Com o avanço da idade há um aumento nos parâmetros testiculares até 5 anos de idade e depois eles diminuem um pouco, mas não de forma significativa. A correlação entre peso corporal e diferentes parâmetros testiculares foi positiva, mas não significativos.

2.4 Biometria testicular

O tamanho testicular varia entre os garanhões, dependendo da raça, tamanho, idade, estação do ano e estado reprodutivo. Tamanho testicular e peso do parênquima estão

altamente correlacionados com a produção de espermatozóides por dia e é um preditor útil do potencial de reprodutivo de um garanhão. Medições testiculares individuais têm demonstrado boa correlação com o peso do parênquima e produção diária espermática (CHENIER, 2007).

Segundo Aurich (2005), conforme o tamanho e raça do garanhão adulto, cada testículo pesa aproximadamente entre 150 e 400gr.

Estudo realizado em cavalos lusitanos foi relacionado o volume testicular com a variação sazonal: dados recolhidos na primavera, verão, outono e inverno mostraram que existem diferenças sazonais significativas no volume testicular e na produção de espermatozóides. O volume testicular médio foi máximo em março ($234,0 \pm 15,8 \text{ cm}^3$), diminuiu até outubro ($203,5 \pm 17,0$ e $168,6 \pm 10,0 \text{ cm}^3$) em junho e outubro, respectivamente) e voltou a aumentar em janeiro ($190,8 \pm 8,8 \text{ cm}^3$). Primavera (março/abril), Verão (junho/julho), outono (setembro/outubro) e inverno (janeiro). Foi observada uma correlação positiva e significativa entre o volume testicular e a produção total de espermatozóides, Apesar dos menores volumes testiculares tenham sido registrados no Outono a produção mais baixa de espermatozóides ocorreu no inverno. Estes resultados mostram que a dimensão dos testículos e a produção de sêmen são influenciadas pela estação do ano. (SILVA et al., 2007).

Neto et al. (2003) ao estudarem os aspectos biométricos do desenvolvimento testicular e corporal em cutias criadas em cativeiro demonstraram que as correlações entre o peso corporal, idade e parâmetros biométricos testiculares apresentam-se altamente significativas.

Segundo Blanchard et al. (2001) a largura dos testículos foi moderadamente correlacionada com parâmetros de qualidade seminal.

Desde o estabelecimento da espermatogênese em garanhões, o início da puberdade tem se mostrado ser mais estreitamente relacionado ao tamanho dos testículos do que a idade do cavalo (BLANCHARD et al., 2001).

Uma forma bastante eficaz de realizar-se a avaliação do volume testicular é a utilização de fórmulas que permitem o seu cálculo (CHENIER, 2007).

$$\text{Volume Testicular (mm}^3\text{)} = 0.5333 \times \text{altura} \times \text{comprimento} \times \text{largura}$$

O desenvolvimento testicular de garanhões apresenta grandes diferenças entre os lados direito e esquerdo. Normalmente o lado esquerdo inicia seu crescimento antes, apresenta um peso maior que o direito, sendo que este alcançará, normalmente, apenas 95% do tamanho do esquerdo (KLUG, 1982).

O tamanho do testículo é proporcional ao tamanho do cavalo e a atividade sexual do garanhão e pode ser um fator importante na determinação do tamanho testicular. Isso ocorre porque a estimulação sexual altera a produção de prolactina e GnRH (hormônio liberador de gonadotrofinas) (MANSO FILHO et al., 2000)

2.5 Histologia

Os testículos de garanhões são compostos por 58% a 72% de túbulos seminíferos, e por 28% a 42% de tecido intersticial. A média do espaço intratubular (39%) é alta quando comparada com touros (24%). As células de Leydig ocupam de 21% a 54% do espaço intersticial variando com a idade, sendo de maior concentração em garanhões adultos, comparado com potros em início de atividade reprodutiva (THOMPSON et al., 1992).

O tamanho e a concentração das células de Sertoli e Leydig assim como a capacidade espermatogênica dos testículos aumenta no garanhão até uma idade aproximada de quatro a cinco anos de idade (AURICH et al., 2005).

Johnson et al. (1986), estudaram a variação sazonal no número de células de Sertoli em garanhões adultos. Com o elevado volume do parênquima na época de reprodução, houve um aumento ($p < 0,01$) significativo no número de células de Sertoli por testículos.

Em um estudo relacionando idade, população de células de Leydig, túbulos seminíferos e produção de espermatozóides em garanhões, mostraram que a população de células de Leydig aumentou com a idade, substituindo os componentes não celulares do interstício e não alterou a proporção dos testículos ocupada por vasos sanguíneos, vasos linfáticos, ou túbulos seminíferos. Tanto o diâmetro como o comprimento dos túbulos seminíferos aumentaram com a idade. (JOHNSON et al., 1981).

A espermatogênese é um processo cíclico no qual os gonócitos, primeiras células germinativas a habitarem os túbulos seminíferos, multiplicam-se e diferenciam-se em

espermatogônias. A última geração destas células, formada pelas espermatogônias B, sofre meiose, formando os espermatócitos primários e as espermatídes arredondadas, que se diferenciam em espermatozóides (AGUIAR et al., 2006).

O desenvolvimento da espermatogênese depende do suporte funcional das células de Sertoli além dos níveis adequados de esteróides, gonadotrofinas e de fatores de crescimento (AGUIAR et al., 2006).

2.6 Testosterona

Altas concentrações locais de andrógenos nos testículos são consideradas essenciais para a ocorrência da espermatogênese normal. Dentro dos testículos, as células-alvo para a testosterona são as células mióides peritubulares e as células de Sertoli, que envolvem e dão suporte às células espermáticas em desenvolvimento (CUNNINGHAM et al., 2008).

Encontra-se na literatura muito pouca informação disponível sobre os mecanismos fisiológicos envolvidos na atividade sexual normal do garanhão e, em particular, o controle endócrino da reprodução. A liberação de testosterona ainda não é claramente compreendida. Porém, autores determinaram o efeito de curto prazo da estimulação sexual sobre as concentrações de testosterona e mostraram um forte aumento de 10 minutos depois do acasalamento ($p < 0,001$), aumentando ainda mais aos, 30 minutos depois do acasalamento ($p < 0,001$) (VILLANI et al, 2006).

Em um estudo relacionando a variação sazonal e de diferentes faixas etárias, com as concentrações séricas de testosterona, Johnson et al. (1983) mostraram que os níveis séricos de testosterona foram proporcionalmente mais elevados tanto com o aumento da idade quanto de acordo com a época de reprodução.

3 ARTIGO

ASPECTOS BIOMÉTRICOS E HISTOLÓGICOS DE TESTÍCULOS DE GARANHÕES DA RAÇA CRIOULA

Biometric and histological aspects of testis from Crioulo stallions

L.Q. Mendes, R.M.Gregory, R.C.Mattos, J.W. Gregory, M.I.M.Jobim,

A. T. Esmeraldino

Resumo

O objetivo deste experimento foi o de avaliar informações relativas à idade e aspectos físicos, como condição corporal (CC), peso corporal (PC), peso do testículo esquerdo (PTE), direito (PTD), volume testicular (VOL), largura testicular (LAR) comprimento testicular (COMP), altura testicular (ALT), assim como concentração plasmática de testosterona (TES), além da presença de espermatozóides nos túbulos seminíferos (ETS), para analisar possíveis correlações entre estas variáveis em garanhões da raça Crioula. Foram utilizados 70 animais de diferentes regiões do Rio Grande do Sul, de idades variando de 375 a 1579 dias (média de 777,94 dias). A CC média no momento da orquiectomia foi de 3,37, enquanto o PC encontrado foi de 322,53 \pm 63,79 kg. Quanto ao testículo esquerdo foi de 87,77 \pm 59,74g. O VOL foi de 57,89 \pm 31,19 mL. A LAR encontrada 37,19 \pm 12,40 mm ao passo que o COMP foi de 67,81 \pm 17,34 mm e a ALT foi de 37,29 \pm 11,50 mm. Em relação ao testículo direito, com a presença do epidídimo, foi verificada a seguinte média:105,52g \pm 71,51g. Após a remoção do epidídimo,para o PTD, encontrou-se 76,21 \pm 64,99g, VOL 51,42 \pm 4,11mL, a LAR foi de 34,97 \pm 13,25mm, COMP foi de 63,94 \pm 19,45mm e a ALT 34,50 \pm 12,21mm. A concentração média de TES dosada foi de 98,25 \pm 122,87 ng/ml de plasma. Em 77,14% dos 35 cortes histológicos realizados, foram encontrados espermatozóides na luz dos túbulos seminíferos (ETS).

Palavras Chave: garanhões crioulos, idade, peso corporal, biometria testicular, testosterona

Abstract

The objective of this experiment was to analyze informations concerning the age and physical aspects, such as body score condition (CC), body weight (PC), weight of left (PTE) and right testicle (PTD), testicular volume (VOL), testicular width (LAR) testicular length (COMP), testicular height (ALT) and plasma testosterone levels (TES), and the presence of spermatozoa in the seminiferous tubules (ETS), to analyze possible correlations between these variables in stallions from the Crioulo breed. Seventy animals were used from different regions of Rio Grande do Sul, in age ranging from 375 to 1579 days (average of 777.94 days). The CC average at the time of orchiectomy was 3.37, while the PC found was 322.53±63.79 kg. As regards the left testicle is the 87.77±59.74 g. The VOL was 57,89±31,19 mL. The LAR found was 37.19±12.40 mm whereas the COMP was 67.81±17.34 mm and ALT was 37.29 ±11.50 mm. In relation to the right testicle, with the presence of the epididymis, was observed the following average: 105.52±71.51 g. After the removal of epididymis, for the PTD, it was found 76.21±64.99 g, VOL 51,42±4,11mL, the LAR was 34.97±13.25 mm, COMP was 63, 94±19.45 mm and ALT 34.50±12.21 mm. The average concentration of TES assayed was 98.25±122.87 ng / ml of plasma. In 77.14% of the 35 histological slices done, spermatozoa were found in the lumen of the seminiferous tubules (ETS).

Keywords: crioulo stallions, age, body weight, testicular biometrics, testosterone

3.1 Introdução

O cavalo da raça Crioula tem alcançado nos últimos anos valores mercadológicos expressivos, além de crescimento significativo no número de animais registrados. Segundo o Setor de Registro Genealógico, foram registrados em 2011, 21900 animais, obtendo um crescimento de 47% em relação á 2001 e, o quadro associativo contava em 2011 com mais de 2.600 sócios, o que representa um incremento em relação a 2001 de 66,54%.. Estes dados justificam que seja dada especial ênfase ao estudo da fisiopatologia da reprodução do Cavalo Crioulo (ABCCC, 2011). A avaliação da fertilidade do garanhão e estabelecimento de critérios para seu julgamento não pode ser deixada em segundo plano. Neste contexto, faz-se necessário investigar aspectos como o desenvolvimento biométrico e morfológico de testículos.

A partir do início da puberdade inicia-se o desenvolvimento dos órgãos reprodutivos, porém a maturidade sexual pode apresentar forte variação. Há relatos da presença de espermatozóides a partir de um ano de idade em testículos de equinos, segundo

Swierstra et al. (1974). Entretanto a maturidade sexual leva aproximadamente dois anos para ser atingida de forma completa (HONDO et al., 1998).

Existem diversos fatores que interferem positiva ou negativamente no desenvolvimento testicular. A nutrição representa um dos com forte influencia. Em um estudo no qual, garanhões alimentados desde potros, com aproximadamente 50% das exigências nutricionais normais, estes apresentaram testículos menores, e por conseqüência com menor produção espermática do que aqueles alimentados adequadamente (AURICH, 2005).

Segundo Aurich (2005), conforme o tamanho e raça do garanhão adulto, o peso de cada testículo pode variar entre 150 e 400gr.

O tamanho dos testículos e seu volume são medidas diretas da quantidade de parênquima testicular, que por sua vez está correlacionado com a produção espermática (THOMPSON et al., 1979).

Estudos voltados para a elaboração de modelos de avaliação da capacidade reprodutiva foram realizados em garanhões (KEENEY et al., 1983) e garanhões miniatura (PACCAMONTI et al., 1999). Foi verificado em ambos estudos que tanto a raça como a idade influenciaram positivamente no tamanho testicular em garanhões.

Thompson et al. (1979) assim como Clay et al. (1987) referem achados similares.

Figueiró (2010), em um dos poucos estudos em garanhões da raça Crioula, cita que existe uma relação entre o peso testicular e número de células de Sertoli. Refere também que o número destas é superior ao encontrado em outras raças.

Encontra-se na literatura muito pouca informação disponível sobre os mecanismos fisiológicos envolvidos na atividade sexual normal do garanhão e, em particular, o controle endócrino da reprodução. A liberação de testosterona ainda não é claramente compreendida (VILLANI et al., 2006).

Em um estudo relacionando a variação sazonal e as diferentes faixas etárias em garanhões, com as concentrações séricas de testosterona, Johnson et al. (1983), mostraram que os níveis séricos de testosterona foram proporcionalmente mais elevados, tanto em relação ao aumento da idade quanto à época de reprodução.

Com objetivo de avaliar informações relativas à idade e aspectos físicos como, condição e peso corporal como também peso, volume, largura, comprimento e altura dos

testículos, assim como níveis séricos de testosterona e presença de espermatozóides na luz dos túbulos seminíferos e então analisar as possíveis correlações entre as variáveis, resolveu-se realizar este experimento.

3.2 Materiais e Métodos

O experimento foi realizado em criatórios particulares de cavalos puros de origem da raça Crioula em diferentes municípios do Rio Grande do Sul, com idades entre um e quatro anos, em um total 70 animais. Para análise estatística foi calculada a idade em dias (IdadeD) dos animais da data de nascimento à data da orquiectomia. Os indivíduos foram identificados nas propriedades para posterior confirmação da idade junto ao serviço de registro genealógico da ABCCC. Foi avaliada a condição corporal de cada indivíduo em uma escala de 1 a 5, juntamente com a estimativa do peso corpóreo através da mensuração da circunferência torácica. Todos os animais estavam em pastagens nativas características de cada região, sem qualquer suplementação.

Os testículos foram obtidos através de orquiectomia, utilizando a técnica descrita por Turner et al. (2002).

Após a orquiectomia os testículos foram devidamente identificados quanto ao registro do animal e lado para serem analisados posteriormente.

3.2.1 Biometria Testicular

Os testículos foram pesados individualmente em uma balança digital, com e sem o epidídimo.

A medição do comprimento, largura e altura dos testículos, sem o epidídimo, foi realizada com um paquímetro e a leitura registrada em mm.

O volume testicular foi calculado através da fórmula $VT = 0,5233 \times \text{largura} \times \text{comprimento} \times \text{altura}$ (CHENIER, 2007).

3.2.2 Histologia

Em 35 garanhões foi removida uma porção do parênquima de cada testículo de aproximadamente 15x15mm que foi armazenada em formalina a 10% até a análise histológica.

No laboratório¹ e após fixação, os tecidos foram desidratados passando pelos álcoois 70 e 96 GL, posteriormente por três seções de álcool absoluto, permanecendo em cada álcool pelo período de uma hora.

A coloração utilizada foi a de hematoxilina-eosina (H-E) para avaliação da presença de espermatozóides na luz dos túbulos seminíferos.

3.2.3 Concentração de Testosterona

Para aferição da concentração plasmática de testosterona, foi coletada uma amostra de sangue da jugular em tubo plástico de 4 mL contendo K2 EDTA 7,2 mg. Após a separação do plasma, este foi armazenado congelado para posterior análise.

Os níveis plasmáticos de testosterona (TES) foram analisados através do sistema quimioluminescência utilizando “Kit” comercial IMMULITE®/IMMULITE 1000® Testosterona Total², utilizando a medição quantitativa da testosterona no plasma.

3.2.4 Análise Estatística

Com a finalidade de avaliar as diferenças das médias das variáveis obtidas, entre os grupos etários foi realizado o teste de Tukey (ANOVA), onde, $p < 0,05$ representa diferença estatisticamente significativa.

¹ Laboratório de Histologia da Universidade Luterana do Brasil (ULBRA) - Rio Grande do Sul.

² Imuno laboratório®, Porto Alegre-Rio Grande do Sul.

Para analisar as correlações entre as variáveis com a Idade e Peso dos garanhões, foi utilizado o teste do coeficiente de correlação de Pearson, onde $r > 0,7$ indica forte correlação, r entre 0,3 a 0,7 correlação moderada e $r < 0,3$ fraca correlação.

3.3 Resultados

Os 70 animais experimentais foram divididos em três grupos conforme as idades, 1 ano ($n=34$), 2 anos ($n=17$) e mais de 3 anos ($n=19$), para análise das diferenças entre as médias dos dados coletados.

Relativamente ao peso corporal, foram encontradas diferenças significativas entre os três grupos etários. Quanto à concentração de testosterona plasmática, os grupos de um e dois anos não diferiram entre si, mas apresentaram concentrações menores que o grupo de mais de três anos. Houve maior número de animais com presença de espermatozoides nos túbulos seminíferos nos grupos de dois e mais de três anos (Tab. 1).

Tabela 1: Média e erro padrão de Idade, Peso Corporal (PC) e de Concentração de Testosterona (TEST) e Porcentual de Presença de Espematozoides nos Túbulos Seminíferos (ETS).

Grupo	IDADE (dias) X ± EP	PC (Kg) X ± EP	TEST (ng/ml) X ± EP	ETS %
1 ano	504 ± 7	270 ± 7 ^a	52 ± 5 ^a	22,00
2 anos	764 ± 22	351 ± 9 ^b	90 ± 17 ^a	100,00
>3 anos	1239 ± 49	389 ± 7 ^c	211 ± 48 ^b	100,00

a, b,c – letras iguais não apresentam diferença estatística entre as médias ($p < 0,05$).

Com relação aos parâmetros analisados para o testículo esquerdo, como: peso sem o epidídimo, volume, largura, comprimento e altura, não foram verificadas diferenças estatísticas entre os animais de dois e três anos, sendo, porém, estes valores, em relação aos de um ano, significativamente maiores (Tab.2).

Tabela 2: Idade, Peso Testículo esquerdo sem epididímo (PTESE), Volume (VOLTE), Largura (LARTE), Comprimento (COMTE) e Altura (ALTE).

	PTESE	VOLTE	LARTE	COMTE	ALTE
Grupo	(g)	(mL)	(mm)	(mm)	(mm)
	X ± EP	X ± EP	X ± EP	X ± EP	X ± EP
1 ano	42 ± 7 ^a	31,3 ± 4,7 ^a	29,4 ± 1,7 ^a	55,0 ± 2,4 ^a	30,6 ± 1,7 ^a
2 anos	123 ± 9 ^b	79,2 ± 5,9 ^b	41,4 ± 2,1 ^b	78,2 ± 2,4 ^b	46,2 ± 8,3 ^b
>3 anos	190 ± 10 ^b	89,1 ± 5,3 ^b	48,2 ± 1,9 ^b	82,8 ± 2,6 ^b	44,4 ± 2,0 ^b

a, b,c – letras iguais não apresentam diferença estatística entre as médias (p<0,05).

A avaliação do testículo direito evidenciou os seguintes achados: peso sem epididímo, volume, largura e comprimento foram significativamente maiores para os animais com mais de três anos, diferença esta também presente entre os de dois e um anos de idade. Com relação à altura esta foi significativamente menor para os animais de 1 ano quando comparada aos de dois e mais de três anos (Tabela 3).

Tabela 3: Idade, Peso Testículo direito sem Epididímo (PTDSE), Volume (VOLTD), Largura (LARTD), Comprimento (COMTD) e Altura (ALTD).

	PTDSE	VOLTD	LARTD	COMTD	ALTD
Grupo	(g)	(mL)	(mm)	(mm)	(mm)
	X ± EP	X ± EP	X ± EP	X ± EP	X ± EP
1 ano	31 ± 4 ^a	23,4 ± 3,3 ^a	26,6 ± 1,5 ^a	50,1 ± 2,1 ^a	27,8 ± 1,6 ^a
2 anos	88 ± 13 ^b	59,7 ± 8,9 ^b	36,8 ± 2,7 ^b	69,2 ± 4,0 ^b	38,8 ± 3,1 ^b
>3 anos	150 ± 13 ^c	96,6 ± 6,7 ^c	49,2 ± 1,9 ^c	85,2 ± 2,0 ^c	43,8 ± 1,9 ^b

a, b,c – letras iguais não apresentam diferença estatística entre as médias (p<0,05).

Não há diferenças entre o testículo esquerdo e o testículo direito para nenhum dos parâmetros analisados.

Foi encontrada correlação positiva entre peso corporal dos garanhões e a sua idade e nível plasmático de testosterona. Não houve, porém, correlação entre a idade e presença de espermatozoides nos túbulos seminíferos (Tab. 4).

Tabela 4: Correlações entre Idade, Peso Corporal (PC), Concentração Plasmática de Testosterona e Presença de Espermatozóides nos Túbulos Seminíferos (ETS).

	PC	TEST	ETS
IDADE	0,678	0,307	0,2565
	p<0,001	p=0,025	p=0,337

p < 0,05 tem significância estatística.

Analisando-se a idade dos animais e a biometria do testículo esquerdo, verificaram-se correlações positivas entre seu peso com e sem o epidídimo, seu volume, largura e seu comprimento. Não foram encontradas correlações entre idade e altura testicular. Quanto ao peso corporal, houve correlações positivas entre o peso do testículo com o epidídimo além do comprimento do mesmo. Encontraram-se correlações negativas quanto ao peso do testículo esquerdo sem o epidídimo, à largura e assim como, altura dos testículos. Não houve correlação entre peso do testículo esquerdo sem o epidídimo e volume testicular (Tab. 5).

Tabela 5: Correlações entre Idade e Peso dos animais , Idade, Peso Testículo esquerdo com (PTECE) e sem epidídimo (PTESE), Volume (VOLTE), Largura (LARTE), Comprimento (COMTE) e Altura (ALTE).

	PTESE	PTECE	VOLTE	LARTE	COMPTE	ALTE
IDADE	0,589	0,604	0,652	0,612	0,546	0,201
	p<0,001	p<0,001	p=0,041	p<0,001	p<0,001	p=0,148
PESO	-0,239	0,763	0,301	-0,762	0,663	-0,609
	P=0,043	p<0,001	p=0,101	p<0,001	p<0,001	p<0,001

p < 0,05 tem significância estatística.

Os dados em relação ao testículo direito evidenciaram correlações positivas entre a idade dos animais, seu peso com e sem epidídimo, largura, comprimento e altura. Não foi encontrada correlação entre idade e volume testicular (Tab. 6).

Tabela 6: Correlações entre Idade e Peso dos animais, Idade, Peso Testículo direito com (PTDCE) e sem epidídimo (PTDSE), Volume (VOLTD), Largura (LARTD), Comprimento (COMTD) e Altura (ALTD)

	PTDSE	PTDCE	VOLTD	LARTD	COMPTD	ALTD
IDADE	0,583	0,583	0,525	0,627	0,583	0,335
	p<0,001	p<0,001	p=0,119	p<0,001	p<0,001	p=0,014
PESO	-0,153	0,669	0,169	0,729	0,634	-0,558
	p=0,191	p<0,001	p=0,363	p<0,001	p<0,001	p<0,001

p < 0,05 tem significância estatística.

Para o peso corporal dos indivíduos, as correlações positivas encontradas foram: peso testicular direito com epidídimo, largura e comprimento. Verificou-se, porém, correlação negativa para altura do testículo. Não foram encontradas correlações para as variáveis do peso do testículo sem o epidídimo e volume testicular.

3.4 Discussão

A presença de espermatozóides em 22% dos túbulos seminíferos de garanhões crioulos de um de idade ou mais, está de acordo com o descrito por Swierstra et al. (1974), confirmando nesta raça, o verificado para outras estudadas pelos autores de que a partir desta idade, embora de forma incipiente já haja um início na produção espermática.

Os achados deste trabalho, em que se verificou um aumento significativo na concentração de testosterona, a partir de dois anos de idade dos cavalos, corroboram o descrito por Hondo et al. (1998) que referem que a maturidade sexual nos garanhões, já pode ser atingida a partir desta idade.

Conforme Aurich (2005), os fatores nutricionais exercem forte influência no desenvolvimento testicular. De acordo com o encontrado neste trabalho, pode-se afirmar que existe uma relação entre a idade e desenvolvimento testicular. O peso dos testículos dos garanhões maduros da raça Crioula neste trabalho é semelhante ao descrito por Figueiró (2011). e Aurich (2005) para outras raças.

As correlações positivas deste experimento, entre idade e peso do testículo esquerdo e direito com e sem o epidídimo, seu volume, largura e seu comprimento, podem auxiliar na avaliação da fertilidade de garanhões da raça Crioula, a exemplo do que cita Thompson et al. (1979). Não foram encontradas correlações entre idade e altura do testículo esquerdo e volume do testículo direito. Apesar desta falta de correlações pode-se acompanhar a idéia de criação de modelo biométrico de avaliação da fertilidade, também em cavalos da raça Crioula, como propõem Keeney et al. (1983) e Paccamonti et al. (1999).

O alto coeficiente de correlação entre idade dos animais, achado neste trabalho e largura dos testículos, pode servir de indicativo da fertilidade, principalmente quanto à produção espermática o que já foi descrito por Thompson et al. (1979) e Clay et al. (1987), para outras raças.

Quanto ao peso corporal, houve correlações positivas entre o peso dos testículos com o epidídimo além do comprimento dos mesmos. Para o testículo direito houve uma correlação positiva entre sua largura e peso corpóreo, fato este que se inverte apresentando-se como correlação negativa em relação ao testículo esquerdo. Deste modo, o modelo proposto por Thompson et al. (1979) e Clay et al. (1987), talvez, não deva incluir o peso dos animais na avaliação da predição da fertilidade. Inclusive neste sentido, Figueiró (2010), cita que o volume testicular relativo dos garanhões crioulos em relação ao peso corpóreo é mais elevado que em garanhões de outras raças de peso mais elevado.

3.5 Referências Bibliográficas

ABCCC. **Setor de Registro genealógico**, Pelotas, 2011.

AURICH, C. Reproduktionsmedizin beim Pferd; **Physiologie der Fortpflanzungsfunktionen beim Hengst..** Stuttgart: Editora Parey Verlag, Kapitel 13; pag. 243-245, 2005.

CLAY, C.M.; SQUIRES, E.L.; AMANN, R.P.; PICKETT, B.W; Influences of season and artificial photoperiod on stallions: testicular size, seminal characteristics and sexual behavior; **Journal of Animal Science**, V. 64, p. 517-525, 1987.

HONDO, E.; MURABAYASHI, H.; HOSHIBA, H.; KITAMURA, N.; YMANOUCHI, K.; NAMBO, Y.; KOBAYASHI, T.; KUROHMARU, M.; YAMADA, J. Morphological

Studies on Testicular Development in the Horse. **Journal of Reproduction and Development**, V. 44, N. 4, 1998.

KENNEY RM, HURTTGEN JP ; PERSON R et al. **Manual for clinical fertility evaluation of the stallion**. Hastings, NB: Society for Theriogenology, 1983. 100p.

PACCAMONTI, D.L.; BUITEN, A.V.; PARLEVILET, J.M.; COLENBRANDER, B.; Reproductive parameters of miniatures stallions; **Theriogenology**, V.51; N. 7; p 1343-1349, 1999.

SWIERSTRA, E.E.; GEBAUER, M.R.& PICKETT, B.W.; Reproductive physiology of the stallion, I. Spermatogenesis and testis composition. **Journal of Reproduction and Fertility**, V. 40, p.113-123;1974.

THOMPSON, D. L. JR. Reproductive physiology of the stallion and Jack.. In: EVANS, J. W. **Horse breeding and management** ,Texas: Elsevier,1ed, 1992. p. 237-257.

THOMPSON, D.L.JR.; PICKETT, B.W.; SQUIRES, E. L.; AMANN, R.P.; Testicular measurements and reproductive characteristics in stallions; **Journal of Reproduction and Fertility**; V. 27,p. 13-7; 1979.

TURNER, A.S.; McILWRAITH, C.W. Castração; In. TURNER, A.S.; McILWRAITH, C.W. **Técnicas Cirúrgicas em Animais de Grande Porte**; São Paulo: Editora Roca LTDA, 2002. p. 157-159

VILLANI, M.; CAIROLI, F.; KINDAHL,H; GALEATI, G.; FAUSTINI, M.; CARLUCCIO, A.; VERONESI, M.C.; Effects of mating on plasma concentrations of testosterone, cortisol, oestrone sulphate and 15-ketodihydro-PGF2alpha in stallions; **Reproduction Domestic Animal**.; V.41, N. 6, p. 544-8; 2006.

REFERÊNCIAS

ABCCC. **Setor de Registro genealógico**, Pelotas, 2011.

AFONSO, A. ; CORREA, S. **Cavalo Crioulo: Uma história de raça**. Porto Alegre: Sagra D-C Luzzato, 1992. 210p.

AGUIAR, G.V., ARAUJO, A.A. & MOURA, A.A.A., Desenvolvimento testicular, espermatogênese e concentrações hormonais em touros Angus, **Revista Brasileira de veterinária e Zootecnia.**, v.35, n.4, p.1629-1638, 2006.

AURICH, C. Reproduktionsmedizin beim Pferd; **Physiologie der Fortpflanzungsfunktionen beim Hengst.**. Stuttgart: Editora Parey Verlag, Kapitel 13; pag. 243-245, 2005.

BLANCHARD, T.L.; BRINSKO, S.P.; VARNER, D.D.; HURTGEN, J.P.; Evaluation of testicular size and Function In 1-3-year-old Stallions. **Proceedings of the Annual Convention of the AAEP**; V.47; p.232-235; 2001.

CANISSO, I. F. Alguns aspectos fundamentais do exame clínico andrológico de jumentos (*Equus asinus*). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.32, n.4, p.233-239, out./dez. 2008.

CHENIER, T.S., Anatomy and Examination of the normal testicle. In: SAMPER, J. C., PYCOCK, J. F. & MCKINNON, A. O.; **Current Therapy in Equine Reproduction**, p.167-168; cap.26; 2007.

CUNNINGHAM, J.G.; Fisiologia Reprodutiva do Macho; In: CUNNINGHAM, J.G.; KLEIN, B.G; **Tratado de Fisiologia Veterinária**, p. 520-525, Ed.4, Elsevier, 2008.

CLAY, C.M.; SQUIRES, E.L.; AMANN, R.P.; PICKETT, B.W; Influences of season and artificial photoperiod on stallions: testicular size, seminal characteristics and sexual behavior; **Journal of Animal Science**, V. 64, p. 517-525, 1987.

DAS, B.C. & SARKAR, M., Testicular biometry and its relation with body weight of yak bull (*Poephagus grunniens L.*), In: Proceedings of the International Congress on Yak, Chengdu, Sichuan, P.R. China., 2004. **Session IV: Reproduction and Physiology**. 2004.

- FIGUEIRÓ, G.M.; **Análise Morfofuncional da espermatogênese do cavalo da Raça Crioula**. Santa Maria, 2010.. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária – Fisiopatologia da Reprodução), Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – RS, 2010.
- FREITAS, C. C de. **Comportamento reprodutivo de garanhões crioulos a campo**. Porto Alegre, 2005.Dissertação (Mestrado em ciências Veterinárias – Reprodução Animal). Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005.
- HONDO, E.; MURABAYASHI, H.; HOSHIBA, H.; KITAMURA, N.; YMANOUCHI, K.; NAMBO, Y.; KOBAYASHI, T.; KUROHMARU, M.; YAMADA, J. Morphological Studies on Testicular Development in the Horse. **Journal of Reproduction and Development**, V. 44, N. 4, 1998.
- JOHNSON, L. & NGUYEN, B.,H.; Annual cycle of the Sertoli cell population in adult stallions; **Journals of Reproduction & Fertility Ltd**, V.76, p. 311-316, 1986.
- JOHNSON, L.& NEAVES, W.B.; Age-Related Changes in the Leydig Cell Population, Seminiferous Tubules, and Sperm Production in Stallions; **Biology of reproduction**, V. 24, p.703-712 ,1981.
- JOHNSON, L.& THOMPSON, D.L.; Age-Related and Seasonal Variation in the Sertoli Cell Population, Daily Sperm Production and Serum Concentrations of Follicle-Stimulating Hormone, Luteinizing Hormone and Testosterone in Stallions; **Biology of reproduction**, V.29,p. 777-789, (1983).
- KENNEY RM, HURTGEN JP; PERSON R et al. **Manual for clinical fertility evaluation of the stallion**. Hastings, NB: Society for Theriogenology, 1983. 100p.
- KLUG, E. **Untersuchung zur klinischen Andrologie des Pferdes**. 260f. Tese de Habilitação à Docência– Tierärztliche Hochschule Hannover, 1982.
- MANSO FILHO, H.C.; COSTA, H.E.C; SANTOS, F.L; ABAGE, M.G.; FERREIRA, L.M.C.; MARQUES, S.R. TESTICULAR MEASUREMENTS IN CAMPOLINA STALLIONS; **Journal of equine veterinary science**, p. 277-278, 2000.
- MARTIN, D.U.; PAN, R.C.& CAMPANA, A. Physiopathology of spermatogenic arrest. **Fertility and Sterility**, v.60, n.6, p.937-946, 1993.
- NETO, A.C.A.; CARVALHO, M.A.M.; MELO, M.I.V.; MIGLINO, M.A; OLIVEIRA, M.F.; ALMEIDA, M.M.; PAPA, P.C.; Aspectos biométricos do desenvolvimento testicular e corporal em cutias(*Dasyprocta aguti*) criadas em cativeiro, **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science** , V. 40, N. 2, p. 154-160, 2003.

PACCAMONTI, D.L.; BUITEN, A.V.; PARLEVILET, J.M.; COLENBRANDER, B.; Reproductive parameters of miniatures stallions; **Theriogenology**, V.51; N. 7; p 1343-1349, 1999.

PIMENTEL, S. M.& SILVA; E. A., Correlação entre perímetro escrotal e características reprodutivas da progênie, **FAZU em Revista**, Uberaba, n.7, p. 177 - 185, 2010

RAESIDE, J.I; Seasonal changes in the concentration of estrogens and testosterone in the plasma of the stallion; **Animal Reproduction Science**, V.1, N. 3, p.205-212.; 1979.

SILVA, J.R.; AGRÍCOLA, R.; BARBOSA, M.; COSTA, L.L.; Variação sazonal do volume testicular, da produção e qualidade do sêmen e do comportamento sexual de cavalos Lusitanos; **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, V.102 (561-562),p. 119-125; 2007.

SOLANET, E.**Tratado de Hipotecnica**. Buenos Aires: Ed. Morata, 1946. 401p.

SWIERSTRA, E.E.; GEBAUER, M.R.& PICKETT, B.W.; Reproductive physiology of the stallion, I. Spermatogenesis and testis composition. **Journal Reproduction and Fertility**, V. 40, p.113-123;1974.

THOMPSON, D. L. JR. Reproductive physiology of the stallion and Jack.. In: EVANS, J. W. **Horse breeding and management**. ,Texas: Elsevier,1ed, 1992. p. 237-257.

THOMPSON, D.L.JR.; PICKETT, B.W.; SQUIRES, E. L.; AMANN, R.P.; Testicular measurements and reproductive characteristics in stallions; **Journal od Reproductive and Fertility**; V. 27,p. 13-7; 1979.

TURNER, A.S.; McILWRAITH, C.W. Castração; In. TURNER, A.S.; McILWRAITH, C.W. **Técnicas Cirúrgicas em Animais de Grande Porte**; São Paulo: Editora Roca LTDA, 2002. p. 157-159

UNANIAN, M. M; SILVA, A. E. D. F.; MCMANUS, C.; CARDOSO, E. P.; Características Biométricas Testiculares para Avaliação de Touros Zebuínos da Raça Nelore, **Revista. Brasileira de zootecnia.**, V. 29, N. 1, p.136-144, 2000.

VALENTIN, R.; ARRUDA, R.P.; BARNABE, R.C.; ALENCAR, M.M.; Biometria testicular de touros Nelore (*Bos taurus indicus*) e touros cruzados Nelore-europeu (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*) aos 20 e 24 meses de idade, **Brazilian Journal of veterinary Research animal Science.**, São Paulo, v. 39, n. 3, p. 113-120, 2002.

VILLANI, M.; CAIROLI, F.; KINDAHL,H; GALEATI, G.; FAUSTINI, M.; CARLUCCIO, A.; VERONESI, M.C.; Effects of mating on plasma concentrations of testosterone, cortisol, oestrone sulphate and 15-ketodihydro-PGF2alpha in stallions; **Reproduction Domestic Animal.**; V.41, N. 6, p. 544-8; 2006.