



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE TECNOLOGIA E RECURSOS NATURAIS



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA

DISSERTAÇÃO

**QUALIDADE SEMINAL DE OVINOS DAS RAÇAS SANTA INÊS E DORPER EM
DIFERENTES CONDIÇÕES AMBIENTAIS**

RODOLFO THIAGO SANTINO SILVA

CAMPINA GRANDE
SETEMBRO DE 2013

RODOLFO THIAGO SANTINO SILVA

**QUALIDADE SEMINAL DE OVINOS DAS RAÇAS SANTA INÊS E DORPER EM
DIFERENTES CONDIÇÕES AMBIENTAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola do Centro de Tecnologia e Recursos Naturais da Universidade Federal de Campina Grande, em cumprimento às exigências para obtenção do Título de Mestre em Engenharia Agrícola. Área de concentração: Construções Rurais e Ambiente.

PROFESSOR DR. JOSÉ WALLACE BARBOSA DO NASCIMENTO

PROFESSOR DR. DERMEVAL ARAUJO FURTADO

ORIENTADORES

Campina Grande

Setembro de 2013

RESUMO

O experimento foi desenvolvido na Fazenda Umarí, localizada no município de Caturité, PB, situada na microrregião do Cariri Oriental da Paraíba, com o objetivo de avaliar os índices bioclimáticos das instalações, e índices fisiológicos e a qualidade seminal de ovinos das raças Santa Inês e Dorper, mantidos em ambientes totalmente expostos ao sol e a sombra. Aferiram-se os índices fisiológicos temperatura retal (TR), frequência respiratória (FR) e cardíaca (FC), temperatura superficial (TS) e realizou-se exames andrológicos do ejaculado dos carneiros, avaliando volume, turbilhonamento, motilidade, vigor, concentração, além da integridade de acrossomo e teste hiposmótico. Foram utilizados 20 machos ovinos das raças Santa Inês e Dorper, dez animais de cada raça, com idade média de 24 meses. Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado em parcelas subdivididas no tempo, com os tratamentos principais constituídos pelas raças e os secundários pelos ambientes. A temperatura do ar máxima, umidade relativa UR máxima e o ITGU máximo, em ambos os ambientes, foram superiores a zona de conforto térmico, acima de 30 °C, 70 % e 85,1, respectivamente. Nos horários de 8 e 17 horas os animais da raça Santa Inês mantidos à sombra apresentaram menores valores de TR, em relação aos animais da raça Dorper, evidenciando a maior capacidade de dissipar calor da raça. Para FR os ovinos Santa Inês apresentaram menores valores que os Dorper às 8, 14 e 17 horas, só havendo diferença estatística às 8 horas. Para FC, os animais da raça Santa Inês do ambiente sombreado apresentaram menores valores que os animais dos demais tratamentos. Para TS, o sombreamento teve influência em reduzir essa temperatura, pois os animais sombreados apresentaram os menores valores, independente da raça, os valores foram menores cerca de 4 a 6° C. O sêmen dos animais mantidos sombreados apresentou melhor qualidade, e os valores para turbilhonamento, vigor, motilidade, concentração e volume foram maiores, assim como integridade de acrossomo e de membrana ao HOST, independentemente da raça. As temperaturas da superfície dos testículos mantiveram-se de 2 a 6° C abaixo da temperatura corporal dos animais. O sombreamento não foi capaz de promover condições ideais para manter os animais na zona de conforto térmico.

PALAVRAS CHAVE: Ambiência, espermatozoides, reprodutores.

1. Introdução

A região semiárida do Nordeste brasileiro tem como uma das mais importantes frações da produção animal a criação de ruminantes, onde os pequenos ruminantes apresentam rebanhos expressivos, representando atualmente 57,2 % do rebanho nacional (IBGE, 2011). A ovinocultura é um componente importante dos sistemas de produção pecuária do Nordeste brasileiro, contando com um efetivo de aproximadamente 10 milhões de cabeças.

Em geral, os rebanhos são explorados para a produção de carne e pele em sistema de criação extensivo, compostos predominantemente de animais puros e seus mestiços. Dentre as raças ovinas deslançadas existentes na região, a Santa Inês se destaca por apresentar alta adaptabilidade às condições tropicais, possuir bom desenvolvimento corporal, com carcaça e pele de ótima qualidade. Esses importantes atributos fazem com que esta raça seja utilizada com sucesso em cruzamentos com raças européias, australianas e sul africanas. Apesar da importância da raça Santa Inês para os sistemas de produção de ovinos no Brasil, ainda são escassas as informações básicas sobre a fisiologia reprodutiva dos reprodutores.

Em 2012 o Brasil abateu cerca de 240 mil cabeças ovinas em frigoríficos com Serviço de Inspeção Federal (SIF), uma produção aproximada de 4 mil toneladas de carne ovina, e importou 6,52 mil toneladas de carne ovina de países vizinhos, isso prova que a demanda por carne ovina é muito superior à oferta, devendo continuar nesse crescimento de demanda por muitos anos, evidenciando a baixa produtividade dos rebanhos brasileiros.

O rebanho ovino paraibano é de aproximadamente 400 mil cabeças, representando 2,63 % do efetivo nacional, os ovinos Santa Inês da Paraíba foram por muitos anos um dos melhores rebanhos do Brasil, sendo motivo de cobiça por criadores de todo Brasil, negociações de reprodutores chegaram a alcançar a incrível marca de R\$ 2 milhões de reais, foi o reprodutor JR & SS Encanto 25, de um criador da cidade de Pombal, e antes desse reprodutor foram inúmeros os casos de animais que atingiram altos valores em leilões da raça por todo Brasil, uma dose de sêmen do carneiro pai do recordista de valor chega a custar entre R\$ 1.000,00 e R\$ 2.000,00, o sêmen dos ovinos é uma fonte de estudos para pesquisadores, por apresentar problemas no congelamento, baixa qualidade espermática pós-descongelamento.

A eficiência reprodutiva constitui um dos principais objetivos de seleção utilizados nos atuais sistemas de produção animal por ser um dos fatores essenciais para a lucratividade. Diversos critérios têm sido utilizados para buscar indicadores confiáveis do potencial reprodutivo dos animais, incluindo medições da biometria testicular, avaliação da motilidade

e defeitos morfológicos, análise computadorizada do sêmen e testes avançados de função espermática, como a integridade acrossômica ou da cromatina, assim como os testes hiposmóticos, que avaliam a integridade de membrana.

A fertilidade do carneiro é controlada pelas mudanças estacionais contínuas. Embora essa espécie produza sêmen durante todo o ano, há um período de esterilidade, no verão, ou de baixa eficiência reprodutiva por vários meses. Ainda não se sabe, porém, se a baixa atividade no verão seria resultante dos baixos níveis de Testosterona ou de uma combinação de fatores ambientais e fisiológicos.

Considerando que os animais em geral respondem em função das condições ambientais, assim como em relação à qualidade da alimentação e verificando que a estrutura atual existente na fazenda Umarí oferece condições de verificar a influência do meio ambiente na produção e na qualidade espermática, das raças ovinas Santa Inês e Dorper submetidos a ambiente sombreado e sem sombreamento, instalou-se o experimento de forma a aproveitar estas condições ambientais e estruturais.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a qualidade e quantidade espermáticas de duas raças ovinas Santa Inês e Dorper submetidas a duas condições ambientais distintas, à sombra e expostos ao sol, verificando-se a correlação entre o estresse térmico e a qualidade seminal.

2.2 Objetivos específicos

- Analisar as condições bioclimáticas no ambiente com sombra e exposto ao sol onde estão os animais.
- Avaliar os parâmetros fisiológicos frequência cardíaca, respiratória, temperatura retal e temperatura superficial dos animais expostos às duas condições distintas, correlacionando-os com os índices bioclimáticos
- Avaliar as características da qualidade seminal, quais sejam: motilidade, vigor, turbilhonamento, volume e concentração espermática em relação às condições em que o animal foi exposto.
- Avaliar Integridade de membrana, integridade de acrossomo.

3. Referencial Teórico

3.1 Semiárido Brasileiro

O semiárido caracteriza-se por irregularidades climáticas, apresentando períodos anuais alternados com chuvas de quatro a seis meses e secas prolongadas de seis a oito meses. Mesmo diante de tais peculiaridades, a região Nordeste abriga praticamente metade do rebanho ovino nacional e apresenta grande vocação pastoril, tendo em vista a presença das principais espécies de ruminantes domésticos, ovinos, bovinos e caprinos, na grande maioria das propriedades rurais (ANDRADE, 2006).

Embora este rebanho seja predominantemente de animais de raças ou tipos nativos, em determinados momentos do dia esses animais procuram sombras, seja das árvores, seja nas encostas ou construções, indicando que mesmo sendo considerados animais rústicos, sofrem algum tipo de estresse pela ausência de sombreamento (ANDRADE, 2006).

Diante dessas dificuldades, os ovinos fazem uso dos mecanismos anatomofisiológicos mais propícios à sua sobrevivência em regiões de altas temperaturas o que a diferencia das demais espécies domésticas (Barbosa et al. 2001), lhes permitindo boa adaptação às adversidades climáticas e as características do semiárido, favorecendo o crescimento do rebanho na região Nordeste, atualmente com 57,2 % do rebanho nacional (IBGE, 2011).

Inestabilidade climática associada à falta de pastagens de boa qualidade, elevadas temperaturas e o manejo inadequado dos rebanhos, são responsáveis pelos baixos índices produtivos dos ovinos em pastejo, o que tem favorecido o interesse pela introdução de sombras nos pastos seja ela natural ou artificial associada à suplementação com concentrado como forma de maximizar o desempenho produtivo com maior conforto possível para os animais (ANDRADE, 2006).

Para Head (1995) as condições climáticas nessas regiões são o maior desafio a enfrentado pelos produtores, pois alteram os três processos vitais dos animais: a reprodução a produção de leite, e a produção de carne. Contudo os maiores obstáculos para o aumento da produção animal em zonas semiáridas são a baixa disponibilidade de forragem de boa qualidade, a limitação na disponibilidade de água e os rigores climáticos com elevadas temperaturas e radiação solar direta e indireta (SILANIKOVE, 1992).

3.2. Efeito do estresse térmico sobre a produtividade animal

Fatores climáticos, como temperatura, umidade do ar e fotoperíodo, podem afetar a capacidade reprodutiva dos ovinos e, em regiões de clima tropical, a alta temperatura ambiental observada no período seco, é o principal fator limitante à eficiência reprodutiva, pois pode interferir na termorregulação testicular, repercutindo negativamente na espermatogênese e, conseqüentemente, na qualidade do sêmen. No carneiro, as características seminais mais afetadas pelas altas temperaturas são motilidade, vigor, concentração e morfologia espermática (CHEMINEAU et al., 1991; MOREIRA et al., 2001).

Segundo Neiva et al. (2004) animais da raça Santa Inês mantidos à sombra apresentam ganho de peso (174 g/dia) aproximadamente 30% maior que aqueles mantidos recebendo radiação solar direta (122 g/dia), destacando a importância da instalação coberta (sombreamento) para se alcançar boa produtividade animal. Isso demonstra que mesmo animais de raças nativas, como a Santa Inês, necessitam de um mínimo de conforto ambiental para maximização da produção.

Normalmente os animais respondem ao estresse pelo calor com aumentos na frequência respiratória, temperatura retal, redução no consumo de matéria seca e queda na produção de leite (DAMASCENO et al., 1998). Uribe-Velásquez et al. (2001) relatam que as respostas do animal ao ambiente quente estão relacionadas de várias formas e, evidentemente, envolvem os efeitos diretos da temperatura, alterando a regulação do sistema nervoso o balanço hídrico, o nível hormonal, o balanço nutricional e o equilíbrio bioquímico.

As altas temperaturas são verificadas na maior do território brasileiro, durante boa parte do ano, sobretudo nas áreas mais próximas ao equador, implica em exposições dos animais ao estresse crônico, o qual pode causar um desequilíbrio do sistema endócrino, causando sérias conseqüências ao desempenho produtivo e reprodutivo dos animais (ENCARNAÇÃO, 1984).

A redução na ingestão de alimentos, diminuição na atividade de pastejo e a procura pela sombra são respostas imediatas ao estresse pelo calor (SILANIKOVE, 2000). Quando os animais se encontram dentro da faixa de termoneutralidade as alterações nas variáveis fisiológicas são mínimas e a produtividade é máxima (SILVA, 2005).

De acordo com Nääs et al. (2002) a radiação solar direta, temperatura e umidade relativa do ar quando acima ou abaixo da zona de conforto térmico podem influenciar negativamente a produção animal. Níveis mais elevados de radiação solar acarretam a elevação do índice de conforto térmico e conseqüentemente estimula os animais a buscarem a

sombra com maior intensidade na estação quente, fato menos evidenciado na estação fria (BARBOSA & SILVA, 1995). São indicadores do estresse calórico o aumento na temperatura da pele, temperatura retal e frequência respiratória além da diminuição na ingestão de alimentos e a redução na produção.

A temperatura retal e a frequência respiratória são as melhores referências fisiológicas para estimar o grau de tolerância dos animais às elevadas temperaturas (BIANCA & KUNZ, 1978). Em geral é recomendado que em ambientes quentes com alta incidência de radiação solar, os animais tenham acesso à sombra com o objetivo de reduzir o aquecimento corporal e facilitar sua termorregulação, e que essa medida possa refletir na melhoria da produção animal, principalmente na eficiência de utilização dos nutrientes.

Na região Nordeste, os carneiros apresentam uma atividade espermatogênica aceitável durante todo o ano. No entanto, o efeito da época do ano (estação chuvosa x estação seca) na qualidade do sêmen de carneiros de diferentes raças tem sido tema de diversos estudos. Em geral, esses estudos demonstram que as raças deslanadas, inclusive a raça Dorper, são bem adaptadas à região, não sofrendo influência dos fatores climáticos sobre a qualidade do sêmen (FRAZÃO SOBRINHO et al., 2009). Em carneiros das raças Santa Inês e Somalis, Silva e Nunes (1984) relataram que a época do ano afetou apenas o volume e a concentração espermática, com um maior volume e uma menor concentração na estação chuvosa.

Freitas e Nunes (1992) observaram um aumento significativo na motilidade massal e na concentração espermática no sêmen de carneiros da raça Santa Inês, na estação chuvosa. Entretanto, nesses estudos, parâmetros importantes que podem interferir na capacidade fecundante do sêmen, como motilidade e morfologia espermática, não foram afetados pela época do ano, demonstrando a adaptabilidade dessas raças às condições climáticas da região.

O desempenho reprodutivo dos pequenos ruminantes domésticos é influenciado pela adaptabilidade dos mesmos ao ambiente em que são explorados. As variações sazonais de fotoperíodo e outras alterações ambientais afetam a atividade reprodutiva do macho, principalmente na quantidade e qualidade do sêmen e no comportamento sexual.

De acordo com Van Demark & Free, (1970) o aumento da temperatura nos testículos causa a degeneração testicular, alterando suas funções de espermatogênese e esteroidogênese. A hipertermia testicular pode causar o aumento da taxa de mutações e alterar a espermatogênese e formação do gameta, podendo levar a infertilidade e esterilidade do macho.

O efeito negativo da temperatura ambiente sobre a qualidade seminal pode ser resultante da indução de degeneração testicular. Essa patologia é ocasionada, entre muitos fatores, por

qualquer processo que determine a elevação da temperatura dos testículos, como, por exemplo, a elevação da temperatura ambiente com consequente estresse térmico (NASCIMENTO & SANTOS, 2003).

As elevações de temperatura produzem espermatozoides anormais, pois afetam etapas da espermatogênese, principalmente na fase intermediária (espermatócitos e espermátides) e, com menos intensidade, na etapa inicial (espermatogônia) e na final (espermatozoides). Os espermatócitos e as espermátides são muito termo-sensíveis e, quando alteradas, prejudicam a qualidade do sêmen. Já os espermatozoides maduros parecem ser afetados durante o estágio final de desenvolvimento ou na região da cabeça do epidídimo, ocorrendo alterações estruturais e metabólicas; este gameta pode fertilizar, mas ocorre a morte embrionária consequente (VAN DEMARK & FREE, 1970).

3.3. Parâmetros fisiológicos

A capacidade do animal em resistir aos rigores do clima pode ser avaliada fisiologicamente por alterações na temperatura retal e na frequência respiratória, sendo que, a temperatura ambiente representa a principal influência climatológica sobre essas variáveis fisiológicas, seguida em ordem de importância, pela radiação solar, umidade relativa do ar e o movimento do ar (MULLER & BOTHA, 1993).

Quando o animal é submetido a condições ambientais estressantes ocorrem alterações nas variáveis fisiológicas, temperatura retal, frequência respiratória e ingestão de alimentos (DE LA SOTA et al., 1996). Tutida et al. (1999) avaliando os efeitos das estações do ano sobre a temperatura retal e frequência respiratória de carneiros, concluíram que as variáveis climáticas temperatura do ar, temperatura do globo negro, velocidade do vento e umidade relativa, conforme associação entre si, exercem efeito maior ou menor sobre a temperatura retal e frequência respiratória, independente da raça estudada.

Segundo Cena & Monteith (1975) a evaporação através do trato respiratório ou da superfície corporal é um mecanismo essencial para a regulação térmica em animais homeotérmicos. Em regiões caracterizadas por elevadas temperaturas, interferem na fisiologia animal levando os mesmos a problemas na produtividade animal, pois dificultam a dissipação de calor pelo gradiente baixo entre as temperaturas superficiais (pele) e a ambiental (LEVA, 1998).

A temperatura retal é um bom indicativo da temperatura corporal, sendo considerada a medida mais indicada para estimar a tolerância dos animais ao estresse térmico provocado

pelas elevadas temperaturas do que a frequência respiratória (PHILLIPS, 1955; BIANCA, 1963).

De acordo com Baêta et al. (1987) a elevação da temperatura retal reflete o acúmulo de calor no organismo animal, o qual é resultante do excesso de calor recebido do ambiente, somado á produção interna de calor durante o dia, e da incapacidade dos mecanismos termorreguladores em dissipar todo o excesso de calor recebido. Um indicativo de conforto térmico dos ovinos seria a temperatura retal, que começa a elevar-se quando a temperatura do ar ultrapassa 32 °C (ANDERSON, 1997). Para McDowell et al. (1976) a elevação de 1°C na temperatura retal é o bastante para que ocorra uma redução na produtividade dos animais domésticos.

Cezar et al. (2004), avaliando a adaptabilidade fisiológica de ovinos Dorper, Santa Inês e seus mestiços perante as condições climáticas do semiárido verificaram que, a temperatura retal é influenciada de forma significativa pelo turno, de modo que a temperatura vespertina (40°C) foi superior a temperatura retal matutina (39,5°C), significando que os animais não foram capazes de dissipar todo o calor necessário para manter sua temperatura corporal dentro do limite basal (39,1°C), principalmente durante o período da tarde.

De acordo com Silva e Starling (2003) a frequência respiratória muito elevada e por tempo prolongado pode causar redução na pressão sanguínea de gás carbônico, além de sensível acréscimo no calor armazenado nos tecidos, devido ao trabalho acelerado dos músculos respiratórios. Em condições ideais de temperatura ambiente para ovinos (12°C), 20% das perdas de calor são feitas através da respiração e, quando expostos a temperaturas acima de (35°C) a perda total de calor via respiração chega a 60% do calor total perdido. (QUESADA et al., 2001)

Para ovinos a taxa de respiração basal é de 25 a 30 mov/min (HALES & BROWN, 1974). Contudo ovinos submetidos à alta carga de radiação solar chegam a atingir uma frequência respiratória de 300 mov/min em condições extremas de estresse (TERRILL e SLEE, 1991). De acordo com Legates (1991), a temperatura corporal é o resultado entre a energia térmica produzida e a energia térmica dissipada.

Segundo Chemineau (1993), os animais utilizam mecanismos anatomofisiológicos para manter a homeotermia, tais como vasodilatação periférica, que aumenta o fluxo sanguíneo para a superfície corporal, e conseqüentemente elevando a temperatura superficial (pele) do animal, este processo é mais observado em animais mantidos em regime de pastejo.

Fehr et al. (1983) relatam que a temperatura superficial, a taxa respiratória e o volume de ar respirado são as respostas ao estresse térmico mais utilizadas, isoladamente ou em

combinação, para o desenvolvimento dos índices de conforto térmico. A temperatura da pele deve refletir melhor a sensação de desconforto térmico do animal causado pela radiação solar excessiva (FANGER, 1970).

Os animais de pelagem escura sofrem maior influência da temperatura ambiente e da radiação solar, absorvendo maior quantidade de calor e por consequência sofrem um aumento na frequência respiratória e na temperatura superficial como forma de amenizar o estresse sofrido (ACHARYA et al, 1995).

3.4. O espermatozoide e seu metabolismo

Os gametas masculinos ou espermatozoides são únicos entre as células quanto à forma e à função, pois, quando maduros, são células terminais, produtos finais de processos complexos de desenvolvimento, não passando por outras divisões ou diferenciações (AX et al., 2003). Os espermatozoides são células alongadas (Figura 1), compostas por uma cabeça de perfil fino, que comporta o núcleo com sua cromatina altamente condensada compreendida por um número haploide de cromossomos, e uma cauda, responsável pela motilidade celular. O espermatozoide é completamente envolto pela membrana plasmática (GARNER & HAFEZ, 2003).

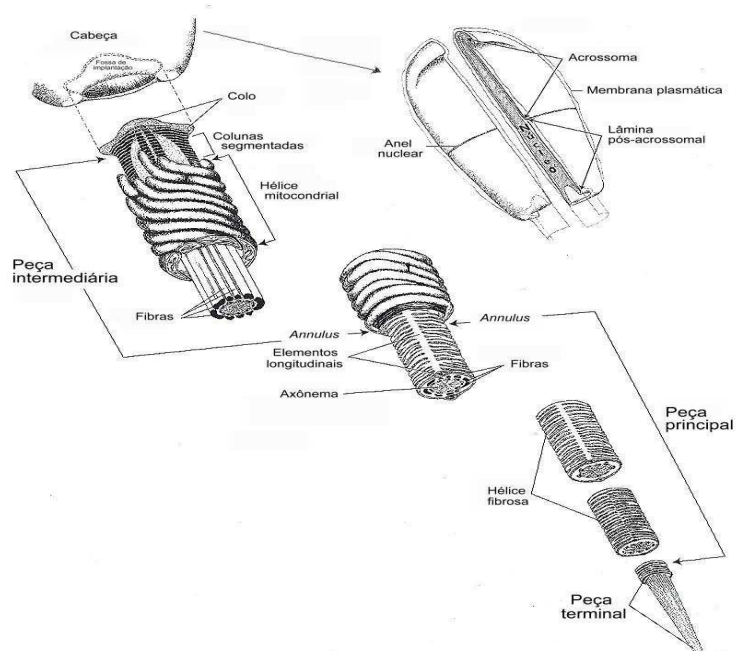


Figura 1. O espermatozoide e suas estruturas internas. (Fonte: SENGER, 2003).

Sobre a cabeça do espermatozoide encontra-se o acrossoma ou capa acrossomal, uma fina cobertura com dupla camada de membranas que envolvem intimamente o núcleo espermático. O acrossoma contém as enzimas hidrolíticas necessárias à penetração no oócito (BRINSKO, 1999).

Segundo Garner e Hafez (2003), esta penetração inicia-se com a fusão do segmento equatorial do acrossoma, juntamente com a porção anterior da região pós acrossomal, à membrana oocitária durante a fertilização. Este fenômeno é denominado de reação acrossomal que, conforme observado por Gonçalves et al. (2002), só ocorre com a capacitação do espermatozoide pelo trato genital feminino na migração espermática.

A cauda do espermatozoide encontra-se dividida em quatro discretas divisões anatômicas: o colo (conexão da cauda com a cabeça), a peça intermediária, a peça principal e a peça terminal. A articulação do colo, com o núcleo espermático, ocorre em uma concavidade do núcleo identificada como fossa de implantação (BARTH & OKO, 1989).

A peça intermediária apresenta-se como uma estrutura flagelar do tipo 9+(9+2), isto é: nove fibras densas que circundam nove pares de microtúbulos, e estes envolvem dois filamentos simples de microtúbulos. O axonema é composto pela estrutura 9+2 de microtúbulos sendo recoberto, junto com as fibras que o circundam, por uma bainha em forma de hélice composta por numerosas mitocôndrias (JASKO, 1992).

A bainha da peça principal é composta por fibras, como se fossem costelas, e é esta característica que a diferencia da peça intermediária. O *annulus* é a região que separa essas duas bainhas; a peça terminal está na região mais distal e começa onde termina a bainha fibrosa. Inicialmente, o arranjo 9+2 do axonema permanece intacto na peça terminal, e mais distalmente, os pares de microtúbulos dissociam-se e terminam, restando no final somente os microtúbulos centrais (BARTH & OKO, 1989).

Segundo De Robertis e De Robertis Jr. (1993) e Stryer (1996c), os pares de microtúbulos periféricos do axonema deslizam uns sobre os outros, para produzir o encurvamento, resultando no movimento da cauda do espermatozoide. Em uma cauda de espermatozoide intacta, os raios resistem a esse movimento de deslizamento, que é então convertido em um encurvamento local; a nexina, que é uma proteína muito distensível, mantém juntos os pares de microtúbulos durante este processo de deslizamento para que o movimento da cauda do espermatozoide possa ocorrer.

Antigamente, acreditava-se que depois de formado, os espermatozoides traziam consigo a energia necessária à sua meta fisiológica; sabe-se hoje, que estas células são capazes de efetuar trocas metabólicas com o meio onde se encontram e essas trocas são

facilitadas pelo caráter filiforme do espermatozoide, o qual lhe confere grande permeabilidade (MIES FILHO, 1987).

O espermatozoide maduro não possui um sistema de reparação celular, nem é capaz de sintetizar novas enzimas. Conseqüentemente, a maioria dos constituintes necessários para a função ou metabolismo espermático é sintetizada durante a espermatogênese, restando ao espermatozoide somente as funções de manutenção e produção de energia (AMANN & GRAHAM, 1992).

Os espermatozoides retiram a energia necessária à sua fisiologia do substrato extracelular, sendo esta derivada principalmente dos carboidratos (AMANN & GRAHAM, 1992). Embora faltem muitas das organelas associadas aos processos metabólicos, os espermatozoides possuem as enzimas envolvidas nas reações da glicólise, no ciclo de Krebs, na oxidação de ácidos graxos e no transporte iônico (GARNER & HAFEZ, 2003).

Os glicídios são considerados a reserva energética e o intermediário metabólico, podendo ser rapidamente mobilizados para gerar glicose, que é a principal fonte para a produção de energia (STRYER, 1996b), mas conforme observado por Amann e Graham (1992), nem todos os açúcares ou carboidratos, podem ser metabolizados pelos espermatozoides.

A glicose é transportada através da membrana plasmática por proteínas específicas, proporcionando a principal fonte de adenosina trifosfato (ATP) para os espermatozoides durante o metabolismo aeróbico (SCHMITT et al., 2003). Esta atividade aeróbica fornece a maioria da energia que será convertida em ATP, e embora este ATP seja utilizado em grande parte para manter a motilidade espermática, alguma parte também é usada na manutenção dos processos ativos de transporte da membrana plasmática, impedindo a perda de componentes iônicos vitais ao espermatozoide (GARNER & HAFEZ, 2003).

3.5. A membrana espermática

As propriedades biológicas e biofísicas das membranas celulares, incluindo a membrana espermática, são determinadas pela sua composição molecular. Essa composição é especialmente interessante na tecnologia da reprodução animal, pois exerce influência na fusão da membrana espermática durante a fertilização e nas mudanças físicas que ocorrem na mesma durante a capacitação espermática, a congelação e a descongelação (PARKS & GRAHAM, 1992).

Segundo Zúccari (1998), as membranas biológicas constituem uma barreira de permeabilidade altamente seletiva sendo a composição molecular e iônica do meio intracelular regulada por sistemas de transportes especializados, na forma de bombas e passagens moleculares. O espermatozoide de mamíferos é um exemplo de célula altamente especializada, que possui uma membrana plasmática compartimentada, que pode ser subdividida em cinco regiões conhecidas como acrossoma, segmento equatorial, lâmina pós-acrossomal, peça intermediária e peça principal/terminal (CHRISTOVAN et al., 2004).

A membrana plasmática do espermatozoide é composta por uma dupla camada lipídica estruturada em um modelo chamado de “mosaico fluido” (Figura 2), assim denominado por causa do mosaico de proteínas entre os lipídios e por que a camada lipídica é fluida, isto é: as moléculas lipídicas difundem-se rapidamente no plano da dupla camada, assim como as proteínas, a menos que sejam ancoradas por interações específicas. Esta dupla camada possui os fosfolipídios (moléculas compostas por uma cadeia de ácidos graxos hidrofóbicos e por uma cabeça polar contendo um grupo de fosfato hidrofílico) como seu componente predominante (STRYER, 1996a; HEIDEMANN, 1999).

Embora, muitos componentes da membrana plasmática estejam distribuídos uniformemente ao longo da superfície do espermatozoide, cada região também contém uma população específica de antígenos, responsáveis pela sua função especializada, por exemplo, o reconhecimento da zona pelúcida (CHRISTOVAN et al., 2004).

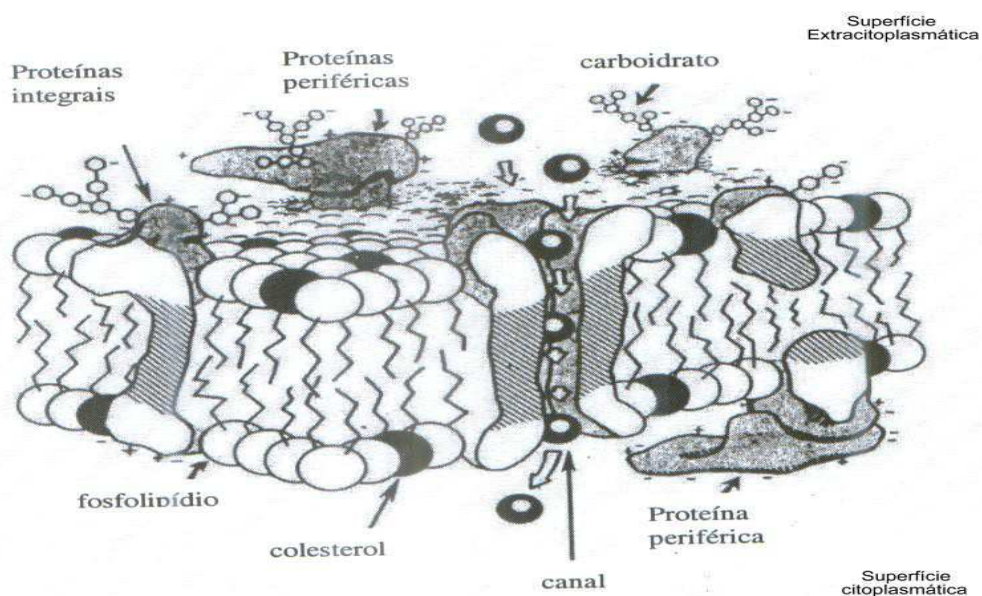


Figura 2. Representação diagramática da membrana plasmática e sua estrutura de “mosaico fluido”.

(Fonte: ZAFIAN, 1984)

A membrana plasmática do espermatozoide sofre extensa remodelação devido a mudanças nas quantidades relativas de fosfolipídios, ao processamento e reposicionamento de antígenos, durante a maturação epididimária e capacitação espermática, além da troca de proteínas com o líquido seminal (CHRISTOVAN et al., 2004). Por isso, a membrana plasmática é extremamente importante para a manutenção do balanço iônico celular. Lesões nessa estrutura podem resultar em morte espermática (SQUIRES et al., 1999).

3.6. Teste hiposmótico (HOST)

Segundo Lagares et al. (1998) a membrana plasmática está envolvida com trocas metabólicas com o meio extracelular e, por isso a grande importância do estudo da funcionalidade da mesma, somado aos parâmetros tradicionais de avaliação da qualidade do sêmen, com a finalidade de aumentar os índices de fertilidade.

Durante décadas, a integridade da membrana plasmática celular tem sido avaliada por meio da utilização de corantes. Colorações tais como a eosina/nigrosina ou o *trypan-blue*, também chamadas de colorações “vitais” são utilizadas para verificar a integridade física da membrana plasmática do espermatozoide (BRITO et al., 2003).

Mas recentemente, colorações fluorescentes foram desenvolvidas com a mesma finalidade, principalmente para o espermatozoide criopreservado. O Iodeto de propídio (IP) que é um corante DNA-específico, cora de vermelho fluorescente somente os espermatozoides com lesões na membrana plasmática. Já o diacetato de carboxifluoresceína (CDFA), que pode ser combinado ao IP na avaliação da integridade da membrana espermática, irradia uma coloração verde fluorescente ao sofrer hidrólise quando penetra em um espermatozoide com membrana plasmática intacta (HARRISON & VICKERS, 1990). Entretanto, a necessidade de um microscópio de fluorescência inviabiliza a utilização dessas colorações em espermiogramas feitos a campo.

Contudo, a avaliação da integridade física da membrana plasmática do espermatozoide, por si só, não é suficiente para prever a possível capacidade fertilizante da célula espermática (JAGER et al., 1991), pois, a funcionalidade bioquímica da membrana plasmática, é um dos fatores que possibilita ao espermatozoide reconhecer o oócito e desencadear assim, todo o processo de penetração/fertilização.

Trabalhando com sêmen humano, Jeyendran et al. (1984), propuseram a utilização do teste hiposmótico ou HOST (*Hypoosmotic Swelling Test*) na avaliação da integridade

funcional da membrana plasmática do espermatozoide, baseando-se em um fenômeno denominado “*swelling*”, observado inicialmente por Dreivius e Eriksson (1966).

Uma das características da membrana plasmática da célula espermática é a sua capacidade de transporte seletivo de moléculas. Quando exposta a uma condição de baixa osmolaridade, a água penetra no interior dos espermatozoides para atingir o equilíbrio osmótico (INAMASSU et al., 1999). Este influxo de água aumenta o volume das células e a membrana plasmática se expande (*swelling*); o espermatozoide então, por apresentar morfologia singular, ao ser submetido ao choque hiposmótico tende a promover um dobramento de cauda (Figura 3), dando um indicativo que estava com a membrana plasmática integralmente funcional (DELL’AQUA JÚNIOR et al. 2002).

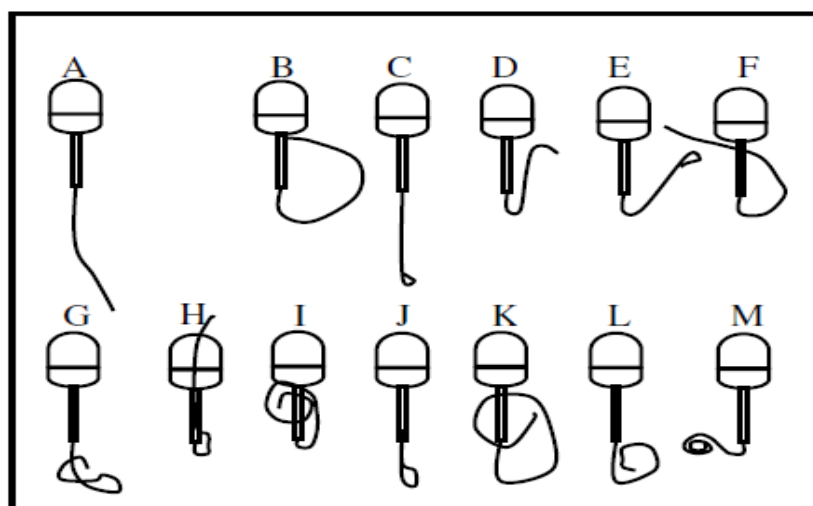


Figura 3. Efeito do teste hiposmótico: A- espermatozoide sem reação (anormal); B a M- vários graus de reação nas caudas dos espermatozoides (normais) (FONSECA et al., 2005).

Entretanto, devido à existência de alterações morfológicas na região da cauda do espermatozoide, decorrentes de processos pré-ejaculatórios e/ou inabilidade técnica que causa, por exemplo, o choque térmico, fez-se necessário o emprego de fórmulas nas quais se diferenciavam essas alterações das ocasionadas pelo HOST. Para tal, Jeyendren et al. (1984) propuseram uma fórmula matemática direta, na qual se multiplica o número de espermatozoides alterados após o HOST por cem e divide-se pelo total de espermatozoides contados na mesma área. Correa e Zavos (1994) e Vazquez et al. (1997) utilizaram uma fórmula semelhante, mas subtraíram do valor final a proporção de espermatozoides com cauda semelhante à reativa em uma amostra controle.

Visando melhorar essa metodologia de cálculo, Melo (1999), após observar que a incubação espermática em soluções isosmóticas, reproduzindo o ensaio de Vazquez et al.

(1997), não induzia mudanças significativas na morfologia da cauda, concluiu que a própria avaliação do sêmen para a morfologia espermática, poderia ser utilizada como grupo controle. Sendo assim, propôs uma fórmula matemática, na qual a porcentagem de reação hiposmótica é expressa por: $HO(\%) = (\% \text{ de alterações na região da cauda após o HOST}) - (\% \text{ de alterações na região da cauda antes do HOST})$, sendo que possíveis resultados negativos são considerados iguais a zero.

Com esta fórmula, Melo (1999) acredita ter diminuído o erro de leitura e interpretação dos resultados, simplificando ainda mais o HOST, aproximando-se do valor real de formas reativas, principalmente em ejaculados com elevada porcentagem de alterações na região da cauda antes do HOST.

Embora a cabeça do espermatozoide também seja recoberta pela membrana plasmática, o volume desta não aumenta tanto em condições hiposmótica como o volume da cauda, que no espermatozoide bovino, pode aumentar de 3,5 a 4 vezes (DREVIUS & ERIKSSON, 1966). Este fato, segundo Melo (1999), indica a não necessidade da inclusão das anormalidades de acrossoma e cabeça na fórmula de cálculo de formas reativas ao HOST.

A microscopia por contraste de fase é a mais indicada para a avaliação da reação espermática ao HOST. O aumento tem variado de 200 a 1.000 vezes (JEYENDRAN et al., 1984; DELL'AQUA JÚNIOR et al., 2002; FONSECA et al., 2001; FERREIRA et al., 2001), entretanto Melo (1999) aconselha o uso de aumentos maiores, quando possível, como 1.250 vezes, pois com isso, minimizam-se possíveis erros na leitura, principalmente nas alterações da morfologia da peça terminal, mais difíceis de serem avaliadas em pequenos aumentos.

O número de células espermáticas a serem contadas visando determinar percentualmente a reação hiposmótica da amostra de sêmen, varia conforme os pesquisadores. Jeyendran et al. (1984), não observou diferença significativa entre as avaliações que contaram 100 ou 200 espermatozoides por amostra. Nie e Wenzel (2001), também não observaram essa diferença entre as contagens de 100 e 200 e entre 100 e 500 espermatozoides.

Com base no protocolo proposto por Jeyendran et al. (1984) para o sêmen humano, vários pesquisadores vêm utilizando o HOST no sêmen de diversas espécies domésticas, tais como nos bovinos (CORREA & ZAVOS, 1994), suínos (VAZQUEZ et al., 1997), equinos (MELO & HENRY, 1999), cães (INAMASSU et al., 1999) e ovinos (OBERST et al., 2003). A capacidade de reação do espermatozoide caprino frente a condições hiposmóticas foi demonstrada por Ferreira et al. (2001) e por Fonseca et al. (2001). Sendo que, esses pesquisadores utilizam diferentes soluções hiposmóticas, em diversas osmolaridades na aplicação do HOST.

3.7. Soluções hiposmóticas e osmolaridade

O teste hiposmótico foi primeiramente aplicado utilizando-se soluções de açúcares (frutose, melitose e sacarose) e eletrólitos (citrato de sódio e cloreto de sódio), onde a solução composta por 50% de frutose e 50% de citrato de sódio, ambos a 150mOsmol/Kg H₂O, mostrou-se superior às demais em espermatozoides humanos (JEYENDRAN et al., 1984).

Ainda de acordo com Jeyendran et al. (1984), o citrato de sódio e o cloreto de sódio são eletrólitos que atuam na manutenção da integridade funcional dos espermatozoides, sendo o citrato de sódio empregado em estudos de padronização do HOST. A frutose e a sacarose são açúcares comumente utilizados em meios diluidores de sêmen, embora a membrana plasmática não permita o transporte da sacarose, devido ao seu peso molecular, o que pode gerar reações diferentes das obtidas com a frutose, açúcar que tem fluxo através da membrana plasmática do espermatozoide. Neild et al. (1999) realizaram estudos nos quais, além desses dois açúcares, foi utilizada também a lactose como componente da solução hiposmótica.

Experimentos conduzidos por diversos pesquisadores demonstram que o intervalo de 100 a 150mOsmol/Kg H₂O tem permitido, aos espermatozoides, um percentual maior de reatividade hiposmótica. Correa e Zavos (1994) relataram que os espermatozoides bovinos apresentaram 48% de reação hiposmótica ($P < 0,05$) quando submetidos à osmolaridade de 100mOsmol/Kg H₂O. Fonseca et al. (2005) não observaram diferença significativa entre as osmolaridades de 100, 125 e 150mOsmol/Kg H₂O, sendo que a segunda, demonstrou um leve aumento numérico na porcentagem de reação. Oberst et al. (2003), também não encontraram diferença significativa entre 100 e 150mOsmol/Kg H₂O trabalhando com o sêmen ovino.

Segundo Alves (2006) a osmolaridade de 50mOsmol/Kg H₂O, entre as osmolaridades testadas no sêmen caprino *in natura*, apresentou as maiores médias ($P > 0,05$) para as reações hiposmóticas, essas reações são de visualização mais rápida e precisa na microscopia óptica de contraste de fase, facilitando com isso a leitura do teste hiposmótico.

3.8. Acrossomo

O acrossomo é uma estrutura de dupla parede, situada na cabeça do espermatozoide, entre a membrana plasmática e a porção anterior do núcleo (GARNER & HAFEZ, 2004). O acrossomo consiste em uma organela secretória, derivada do complexo de Golgi, preenchido com enzimas hidrolíticas, organizadas em uma matriz enzimática, que são liberadas durante a

reação acrossomal, um evento essencial para a penetração do espermatozoide através da zona pelúcida e fusão com a membrana plasmática do oócito. Portanto a integridade do acrossomo, bem como a manutenção de suas enzimas, são fundamentais para que ocorra a fertilização (SILVA & GADELLA, 2006). De acordo com esses autores, reações acrossomais prematuras levam à espermatozoides inférteis e, por isso, a avaliação da integridade acrossomal antes dos processos de reprodução assistida vem sendo cada vez mais empregada.

Estudos realizados por Chan et al. (1996), mostram que a integridade da membrana acrossomal pode estar relacionada com a integridade de outras membranas e também com a motilidade celular. Por esse motivo, houve o interesse de se estudar marcadores fluorescentes de acrossomo combinados a marcadores de membrana, como o Iodeto de Propídio (PI).

Assumpção et al. (2002) observaram maior eficiência da técnica de epifluorescência com Iodeto de Propídio e Diacetato de Carboxifluoresceína em comparação à coloração tripla com vermelho congo, vermelho neutro e giemsa para detectar espermatozoides capacitados. Estes autores relacionaram a classificação proposta por Harrison e Vickers (1990) à capacitação espermática, além de outros tipos de sonda que também são empregadas na avaliação do acrossomo, como é o caso da sonda fluorescente de isotiocianato associada à lecitina do amendoim.

3.9. Morfologia Espermática

Os ovinos (*Ovis aries*) têm sido explorados mundialmente pela excelente qualidade de carne e lã, principalmente em países em desenvolvimento. Assim, inúmeras pesquisas têm sido desenvolvidas para o aprimoramento de biotecnologias associadas à reprodução desses animais, com o objetivo geral de garantir o beneficiamento e conservação do sêmen para fins de inseminação artificial, transferência de embriões e fertilização in vitro nessa espécie (DE PAUW et al., 2003).

Neste sentido, o desenvolvimento de novas metodologias e estratégias que permitam prever a capacidade fecundante do sêmen ovino torna-se cada vez mais importante (NUNES, 1998).

Nas últimas décadas os métodos mais sofisticados utilizados para a avaliação da viabilidade espermática são Computer Assisted Sperm Analyses (CASA) (GRAVANCE et al., 1995), citometria de fluxo (HARRISON & VICKERS, 1990), microscopia de fluorescência (CENTOLA et al., 1990) e microscopia de contraste de fase. Esses métodos, apesar de serem mais recomendados, ainda possuem um grande entrave quanto ao uso prático

na rotina veterinária, principalmente devido ao alto custo dos equipamentos (MEDEIROS et al., 2006). Dessa forma, surge à necessidade de se desenvolver novas técnicas que permitam uma boa visualização do contorno e divisões da célula espermática, permitindo identificar alterações na morfologia (CHEMINEAU et al., 1991), de forma simples, prática, com baixo custo e, principalmente, que seja aplicável a campo. Dentre essas técnicas pode-se destacar a utilização de corantes, que têm sido descritos para avaliar a viabilidade espermática sob preparação úmida (RODRIGUES & RODRIGUES, 1998) e/ou através da confecção de esfregaços (GALVANI et al., 2000).

Todo ejaculado conterá alguns espermatozoides morfológicamente anormais. Uma proporção de 8 a 10% não tem efeito adverso sobre a fertilidade em ovinos, entretanto, se essa porcentagem ultrapassar 25%, do total, pode-se esperar uma fertilidade diminuída (BEARDEN & FUQUAY, 1997).

As anormalidades estruturais dos espermatozoides podem afetar, isolada ou simultaneamente, as diferentes partes que o formam: cabeça, colo, peça intermediária e parte principal da cauda (DERIVAUX, 1980). Segundo Hafez (1995), as anormalidades morfológicas podem ser primárias, resultantes de falhas na espermatogênese; secundárias, que ocorrem durante a passagem dos espermatozoides através do epidídimo, e terciárias, exógenas ou externas, que se produzem durante a ejaculação, depois desta ou por manipulação inadequada da amostra.

A cabeça pode apresentar anormalidades de forma (estreita na base, piriforme, contorno anormal, delgada, vacúolos nucleares), de dimensão (subdesenvolvido, gigante, pequena), de duplicação (formas duplas), de posição ou de estrutura do acrossoma (acrossoma desprendido) e de afinidades a corantes. As anormalidades do colo afetam a implantação da cabeça ou da cauda. Já a peça intermediária pode se apresentar em forma de saca-rolha, com pseudogota, com implantação abaxial, retroaxial, oblíqua, e com outros defeitos. E a peça principal do flagelo pode se apresentar fortemente dobrada ou enrolada (DERIVAUX, 1980).

3.10. Parâmetros Seminais de carneiros Santa Inês

A raça Santa Inês é nativa do Nordeste brasileiro e descendente do cruzamento de carneiros da raça Bergamácia com ovelhas crioulas e também da raça Morada Nova (FIGUEIREDO & ARRUDA, 1980). Mies Filho (1986) mencionou como valores médios normais para o sêmen de ovinos sexualmente maduros os seguintes: volume entre 0,8 e 1,0

mL; aspecto cremoso; concentração 2×10^6 spz / mm^3 ; 75% de motilidade progressiva e de 15 a 20% de anormalidades espermáticas totais.

Silva e Nunes (1987) verificaram os seguintes parâmetros: volume médio de sêmen (mL) $1,64 \pm 0,185$ mL, concentração espermática ($\times 10^9$ /mL) $5,14 \pm 0,133$, número de espermatozoides no ejaculado ($\times 10^9$) $5,87 \pm 0,203$, motilidade massal (0-5) de $2,11 \pm 0,11$. Com relação às patologias espermáticas, foi encontrado, $15,0 \pm 2,55\%$ e $14,4 \pm 2,13\%$ nas épocas seca e chuvosa, respectivamente. O volume de sêmen na época chuvosa foi maior do que na seca e a concentração de espermatozoides no ejaculado foi inversamente proporcional ao volume. Para Corteel (1983), o aumento do volume é devido a secreções que são adicionadas aos espermatozoides com função de nutrir e facilitar a motilidade dos espermatozoides, estas secreções são oriundas das glândulas anexas ao sistema reprodutivo, não indicando, necessariamente um aumento na concentração de espermatozoides.

Freitas e Nunes (1992), estudando carneiros deslanados, criados na região litorânea nordestina, não observaram diferenças significativas ($P > 0,05$) com relação ao volume do ejaculado e morfologia espermática, nas épocas seca e chuvosa. No entanto, encontraram diferenças significativas ($P < 0,05$) entre as épocas para os parâmetros motilidade massal e concentração espermática. Os valores médios observados para volume ejaculado (mL), motilidade massal (0-5) e concentração espermática (bilhões spz/mL) na época seca e chuvosa, foram, respectivamente: $1,11 \pm 0,27$ e $1,00 \pm 0,23$; $2,80 \pm 0,88$ e $3,28 \pm 0,87$; $2,73 \pm 0,76$ e $3,01 \pm 0,76$. O total de patologias encontradas no período seco foi de 13,6% e no chuvoso de 11,0%.

Sousa et al. (1992), estudando características do sêmen de carneiros deslanados sem raça definida, no Estado do Piauí, encontraram valores médios de $1,06 \pm 0,56$ mL para volume; $72,64 \pm 7,37\%$ para motilidade; $3,69 \pm 0,42$ para vigor e $1,86 \pm 0,37 \times 10^6$ espermatozoides/ mm^3 de concentração espermática; os defeitos maiores foram da ordem de $3,66 \pm 1,43\%$ e os defeitos menores na ordem de $4,63 \pm 1,59$.

Freitas et al. (1989), estudando a produção espermática de ovinos da raça Santa Inês, na época seca, encontraram: $1,26 \pm 0,41$ ml, para volume; $3,00 \pm 0,89$, para motilidade massal e $1,65 \pm 1,23$ bilhões de espermatozoides no ejaculado, para concentração. Durante a época chuvosa os carneiros apresentaram $1,37 \pm 0,34$ ml, para volume; $2,94 \pm 0,88$ para motilidade massal e $3,12 \pm 2,03$ bilhões de espermatozoides no ejaculado, para concentração.

3.11. Termorregulação testicular

A exposição de ovinos a temperaturas elevadas resulta em prejuízo à reprodução (ABDEL HAFEZ, 2002). Os testículos dos mamíferos encontram-se alojados no interior da bolsa escrotal e a temperatura testicular mantém-se entre 2 e 6°C abaixo da temperatura corporal (WAITES, 1970; KASTELIC et al., 1995a). Vários fatores contribuem para a termoregulação escrototesticular, incluindo a estrutura peduncular do escroto e a vascularização testicular que, por meio do plexo pampiniforme, reduz a temperatura escrotal pela troca de calor entre o sangue circulante na artéria e na veia testicular (COOK et al., 1994). Além do plexo pampiniforme, a túnica dartos e o músculo cremaster nos ruminantes alteram a posição dos testículos em relação ao corpo em função da temperatura ambiente (SETCHELL, 1998) e as glândulas sudoríparas favorecem a evaporação diminuindo a temperatura escrotal (BLAZQUEZ et al., 1988).

O aumento da temperatura testicular propicia a degeneração testicular (VOGLER et al., 1991) e está correlacionada com a redução na fertilidade do macho, causando alterações na síntese de proteínas e expressão de gens nas células germinativas e células de Sertoli (KUMAGAI et al., 2000). A alta temperatura ambiente aumenta significativamente a temperatura do escroto no sexo masculino (TAYLOR & BOGART, 1988) e conseqüentemente, no verão a temperatura da pele escrotal é significativamente maior do que no inverno, em carneiros (EL-DARAWANY, 1999b).

Kastelic et al. (1995b), verificaram que o gradiente de temperatura testicular entre o topo e a base foi pronunciada na superfície escrotal (1,6 °C), menor nos tecidos subcutâneos escrotais (0,4 °C), e praticamente inexistente no parênquima testicular (0,1 °C). Em outros estudos, Coulter & Kastelic (1994), observaram que o escroto (com o testículo removido) tem um gradiente de temperatura positivo e que o testículo (sem o escroto) tem um gradiente de temperatura negativa. Estes gradientes aparentemente opostos se complementam, resultando em uma temperatura relativamente uniforme intratesticular (inferior à temperatura do corpo). Foi especulado que esses gradientes podem ser devidos ao arranjo da vasculatura (KASTELIC et al., 1995b).

O escroto é, aparentemente, vascularizado de alto a baixo. Por outro lado, o curso das artérias testiculares está no comprimento do testículo em sentido do polo ventral e, em seguida, diverge em várias artérias menores que se espalham, dorsal e lateralmente ao longo da superfície do testículo antes de entrar no parênquima testicular (GUNN & GOULD, 1975). O gradiente negativo de temperatura no testículo pode ser atribuído ao sangue dentro da

ramificada artéria testicular que promove o resfriamento entre a parte inferior dos testículos e o ponto de entrada no parênquima testicular.

Danos no sêmen estão diretamente relacionados com a temperatura escrotal subcutânea elevada, o que reflete na temperatura dos testículos (MARAI et al., 2007).

Pinto et al. (2001) relataram que o estresse por calor pode provocar a interrupção temporária na produção de espermatozoides, motilidade espermática e de forma secundária, os defeitos espermáticos pareciam ser os critérios mais sensíveis para avaliar os efeitos do estresse térmico em carneiros Santa Inês.

Não foram encontradas correlações negativas significativas entre a temperatura da pele escrotal e potencial hidrogeniônico do sêmen, volume do ejaculado, percentual de motilidade e da concentração espermática ($\text{ml} \times 10^9$) (CRUZ JUNIOR, 2011). A temperatura da pele escrotal dos carneiros aumenta com um aumento na temperatura ambiente, quer para a temporada do ano ou durante o dia. Tais mudanças afetam a capacidade reprodutiva dos animais. Isso sugere a criação de um mecanismo para proteger os carneiros da exposição a altas temperaturas durante a estação de monta ou realizar melhoramento durante os períodos de temperaturas mais brandas do ano, nas áreas de clima quente (MARAI et al, 2007).

3.12. Ovinos Santa Inês

A raça Santa Inês foi desenvolvida no nordeste brasileiro, mais especificamente na Bahia, resultante do cruzamento intercorrente das raças Bergamácia, Morada Nova e animais crioulos do Nordeste. Esses últimos provavelmente foram de tipos nativos vindos da África e, possivelmente, ao longo dos anos, houve um período de seleção para ausência de lã nestes animais cruzados. Entretanto, existe muita controvérsia em relação à origem dessa raça (MARIANTE et al., 2003; PAIVA, 2005).

A partir da década de 90, percebe-se pela morfologia externa dos animais Santa Inês a presença de características da raça Somalis Brasileira e de outras raças lanadas, principalmente a inglesa Suffolk. Na descrição original da raça, espera-se que os machos adultos pesem em torno de 80 kg, contudo hoje, muitos dos reprodutores vendidos em exposições pesam mais de 120 kg (PAIVA, 2005).

Parte desse aumento pode ser justificado pelos avanços no campo da nutrição animal, contudo, esse ganho é improvável de ter sido obtido por meio de melhoramento genético clássico a não ser a partir do uso de raças exóticas de maior porte para aumentar o quarto traseiro da Santa Inês. Em geral são deslanados, com pelos curtos e de grande porte. No

momento, encontra-se em grande fase de expansão, por ser um dos grupos de ovinos com maior importância econômica em função do seu porte e adaptação ao ambiente (PAIVA, 2005).

3.13. Ovinos Dorper

Os ovinos Dorper são originários da região Sul-Africana. Esta raça foi desenvolvida nos anos 30 para regiões semiáridas extensivas da África do Sul, a partir de cruzamentos de ovelhas Blackhead Persian com carneiros chifrudos Dorset, o que resultou em cordeiros Dorper brancos. A diferença de cor é simplesmente um fato de preferência de cada criador. Cerca de 85% dos membros da Associação Sul-Africana de Criadores da raça Dorper criam animais de cabeça preta. Essa raça é numericamente a segunda maior na África do Sul e está difundida em muitos países ao redor do mundo.

A raça apresenta animais tanto de cabeça negra (Dorper) como de cabeça branca (White Dorper). É uma das mais férteis raças de ovinos mochos, com bom comprimento corporal e cobertura de pelos e lã claros e curtos. Apresenta excepcional adaptabilidade, robustez e excelentes taxas de reprodução e crescimento (cerca de 36kg - entre três meses e meio e quatro meses de idade), tanto quanto boa habilidade materna (PAIVA, 2005). Garcia (2001) reporta que a raça Dorper produz carcaças com excelente conformação e distribuição de gordura e apresenta alta velocidade de ganho de peso.

4. Material e Métodos

4.1. Localização

O trabalho foi desenvolvido na Fazenda Umarí, localizada no município de Caturité – PB, microrregião do Cariri Oriental Paraibano, que está situado à 7°25'12" S e 36°1'37" O e 405 metros de altitude. Na classificação climática de Köppen, o clima predominante na região do Cariri é do tipo Bsh, com chuvas de verão e outono, temperatura média anual de 24 °C, com evapotranspiração média anual maior do que a precipitação média do ano (MENDONÇA, F. & DANNI-OLIVEIRA, I.M. 2007).



Figura 4: Mapa da Paraíba em destaque Caturité
Fonte: Wikipédia

4.2. Período experimental

O experimento foi realizado entre os meses de abril e maio de 2012, com duração de 47 dias.

4.3. Fase de adaptação

Os carneiros foram introduzidos na fazenda trinta dias antes do início do experimento para adaptação, foram colocados em seus respectivos ambientes experimentais sete dias antes do início do experimento. Estes receberam ração volumosa a base feno de capim Tifton, silagem de capim Sorgo e Palma forrageira, além de um concentrado proteico formulado para reprodutores.

4.4. Animais experimentais

Foram utilizados 20 carneiros puros, sendo 10 da raça Santa Inês e 10 da raça Dorper, com idade média de 24 meses. Todos os animais foram mensurados e pesados antes do início do experimento. Foram divididos em dois lotes cada um contendo dez animais, cinco de cada raça, colocados em dois ambientes diferentes (sol e sombra), recebendo a mesma alimentação. Cada lote foi alojado em currais de 24 m².



Figura 5: (A) Animais expostos ao sol. (B) Animais em ambiente sombreado.

4.5. Ambientes experimentais

Os ambientes experimentais foram compostos por dois currais, um exposto ao sol e outro a sombra, possuindo uma área de 24 m², no centro destes foram construídos dois cercados de 1 m², onde foram instalados os sensores de temperatura ambiente, umidade relativa do ar e temperatura de globo negro, conectados ao Datalogger Hobo ®, abrigados da radiação solar, em um abrigo de cor branca, com dimensões de 1 metro de comprimento, 60 cm de altura e 50 cm de largura, esse abrigo foi fixado a 45 cm do solo.

Dentro do abrigo foram colocados os seguintes equipamentos: 1 datalogger Instrutherm HT 500®, este coletou informações sobre temperatura ambiente, umidade relativa do ar e temperatura de ponto de orvalho e mais um sensor, que coletou temperatura de globo negro, a cada hora. Estes sensores ficaram distantes 20 cm um do outro, e essa distância era equivalente para o HT 500 e para as bordas do abrigo. Também foi instalado um sensor desabrigado dentro do globo negro.

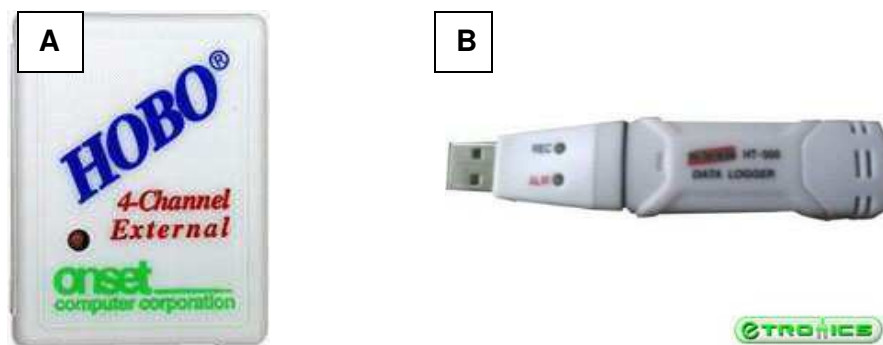


Figura 6. Datalogger Hobo® (A), utilizado para coleta de temperatura de globo negro e cinza, e datalogger Instrutherm HT 500® (B), utilizado para coletas de temperatura ambiente, umidade relativa do ar, e temperatura de ponto de orvalho, respectivamente. Fonte: <http://www.etrronics.com.br>

Durante o período experimental foram registrados os dados climatológicos por meio de datalogger Instrutherm HT 500®, programado para leitura em intervalo de 1 hora durante todo o dia, Temperatura Ambiente (TA), Umidade Relativa do Ar (UR) e Temperatura de Ponto de Orvalho (Tpo) e para coleta de temperatura de globo negro (TGN) foram utilizados datalogger Hobo®, instalados em local de sol e sombra no ambiente experimental, a uma altura de 65 cm do solo. Para o cálculo do índice de temperatura do globo negro e umidade (ITGU) utilizou-se a fórmula: $ITGU = TGN + 0,36 Tpo + 41,5$, descrita por Buffington et al. (1981).

4.6. Coleta de dados fisiológicos

Os parâmetros fisiológicos estudados foram a temperatura retal (TR), frequência respiratória (FR), frequência cardíaca (FC) e temperatura superficial (TS), aferidas três vezes por semana, no período da manhã, nos horários de 08h e 11h, e à tarde nos horários de 14h e 17h. Para medida da temperatura retal (TR) utilizou-se um termômetro clínico veterinário com escala até 44 °C, introduzido no reto do animal, permanecendo por um minuto.

A frequência respiratória (FR) foi obtida através de observação dos movimentos torácicos, contando-se o número de movimentos durante 15 segundos, o resultado foi multiplicado por 4 obtendo-se assim, a FR (mov/min), assim como a frequência cardíaca, com contagem dos batimentos cardíacos por 15 segundos e multiplicado por 4 com o auxílio de um estetoscópio, obtendo-se a FC (bpm)

A temperatura superficial (TS) era determinada por meio da média da temperatura da pele de oito pontos distintos do corpo do animal: frente, pescoço, costado, lombo, coxa,

ventre, canela e testículos, este último aferido em três pontos: a temperatura da pele na altura do funículo do cordão espermático (TCE), no centro da bolsa escrotal (TE) e base do testículo (TB), utilizando-se um termômetro infravermelho digital (INSTRUTHERM®). O termômetro era posicionado a cerca de 20 a 30 cm de distância da superfície e um ponto de luz vermelha era observado na área examinada.

4.7. Coleta de sêmen

Antes da coleta o prepúcio foi limpo com papel toalha, em seguida uma pequena fração do sêmen foi colocada em uma lâmina de microscopia e avaliada em microscópio ótico (Eduotec®), no próprio local do experimento seguindo as recomendações do manual do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (2010).

O sêmen foi coletado em intervalos de 20 dias, através do auxílio de um eletroejaculador (Eletrogen SA 200®), introduzido na ampola retal do animal, aplicando-se impulsos elétricos com duração de 3 segundos, até o animal ejacular. O sêmen coletado em um tubo Falcon (50 ml) graduado, estéril e revestido com papel alumínio evitando a incidência da luminosidade. Outras frações de sêmen eram colocadas em três soluções distintas: formol citrato para análise de concentração espermática, solução hiposmótica para avaliação de integridade de membrana, e solução de PBS para avaliação da integridade da membrana acrossomal.



Figura 7: Eletroejaculador (Eletrogen SA 200®).
Fonte: www.santalydia.com.br

4.8. Características da qualidade seminal

Para as seguintes verificações foram utilizadas as recomendações do Manual do Colegiado Brasileiro de Reprodução Animal (2010). Para o exame dos órgãos externos utilizou-se a inspeção e a palpação. Verificou-se a presença, as dimensões, a consistência, a

simetria, a mobilidade das partes do sistema genital, além da compatibilidade das mesmas com o desenvolvimento corporal e a idade, registrando-se quaisquer alterações encontradas.

O escroto e seu conteúdo foram examinados com o animal em estação. Considerando, inicialmente, as condições da pele quanto a existência de lesões (ectoparasitas, verrugas, ferimentos, cicatrizes, abscesso), mobilidade, sensibilidade, espessura, temperatura e aderências.

Para a avaliação adequada, os testículos foram imobilizados, um ao lado do outro, levemente tracionados junto ao escroto distendido. Foram consideradas as seguintes características: forma, simetria, consistência, mobilidade, sensibilidade, temperatura, posição, tamanho e biometria testicular.

Constituídos por cabeça, corpo e cauda, estão ajustados aos testículos pelo mesoepidídimo e ligamento testicular próprio. De modo geral, os itens para avaliação dos epidídimos são os mesmos utilizados para exame testicular, resguardados os aspectos de forma, tamanho e posição, característica de cada espécie.

4.8.1. Características físicas do sêmen

O volume é expresso em mililitros (ml), o sêmen após ser colhido era mensurado através de graduação contida no tubo cônico tipo falcon.

Para se proceder a avaliação do turbilhamento, colocou-se uma gota de sêmen sobre uma lâmina previamente aquecida e levou-se a um microscópio, com objetiva de 10 a 20X, e realizou-se a leitura (0 a 5).

Vigor representa a força do movimento que acaba influenciando a velocidade com que os espermatozoides se movimentam. O mesmo é classificado de zero a cinco, onde zero é ausência de movimento progressivo com deslocamento de cauda lateral fraco e inexpressivo e cinco resulta em movimento vigoroso e veloz dos espermatozoides, geralmente progressivo, essa avaliação foi feita no momento da avaliação do turbilhamento, é feita simultaneamente (0 a 5).

Motilidade, na mesma lâmina de microscopia utilizada para a avaliação do movimento de massa colocou-se uma lamínula em cima da gota e realizou-se a avaliação da motilidade. O valor expressa a percentagem total de espermatozoides móveis.

Concentração representa o número de espermatozoides por mL ou centímetro cúbico. O procedimento mais comum para se obter a concentração espermática é a contagem das células na câmara de Neubauer (HENRY & NEVES, 1998). Para obtenção da concentração

espermática o sêmen foi diluído em uma solução de formol citrato na proporção de 1:400 (10 μ L de sêmen em 3990 μ L de solução), devido ao sêmen de ovino apresentar uma alta concentração, colocou-se uma fração dessa solução com sêmen diluído na câmara de Neubauer, contou-se os espermatozoides contidos em cinco quadrados, em seguida calculou-se a concentração baseado na diluição empregada, o valor encontrado foi em número de espermatozoides por mm³.

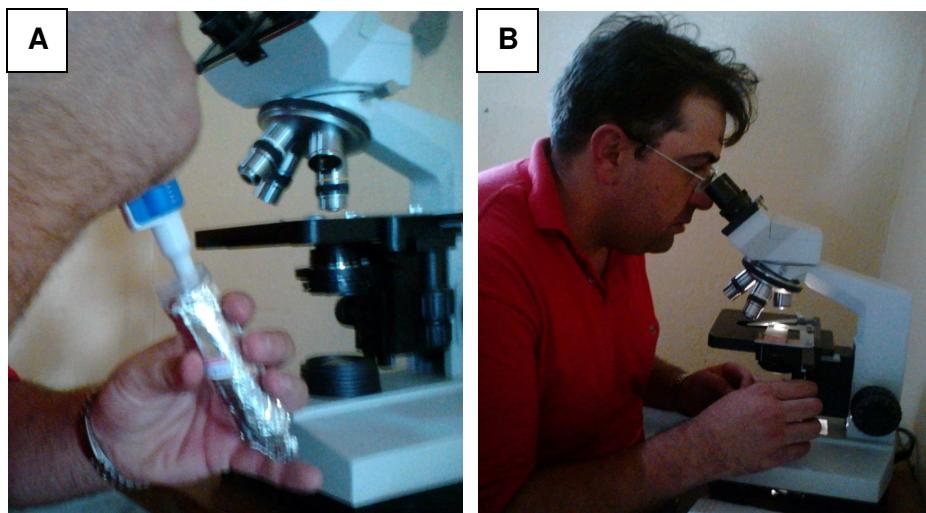


Figura 8: (A) Pipetagem de alíquota seminal. (B) Avaliação das características seminais.

4.8.2. Teste hiposmótico

O teste hiposmótico (HOST) foi empregado para avaliar a integridade funcional da membrana plasmática dos espermatozoides ovino. Uma alíquota do sêmen colhido fora diluído a uma solução hiposmótica na razão de 1:10 (10 μ L de sêmen em 90 μ L de solução). Essa solução de osmolaridade de 50 mOsmol/Kg H₂O, feita com Citrato de Sódio. Em seguida essa solução contendo o sêmen foi submetida a uma incubação em banho-maria a 37°C por 30 minutos. Terminada essa incubação, as amostras foram fixadas em 50 μ L de formol citrato tamponado a 37°C e armazenadas em geladeira (5°C) até o momento da leitura da reação hiposmótica. Esta foi realizada por meio de preparação úmida entre lâmina e lamínula sob objetiva de imersão, por microscopia de contraste de fase com aumento de 1.000 vezes. Optou-se por contar 100 células, pois, segundo Jeyendran et al. (1984), não houve diferença estatística entre contar 100 ou 200 espermatozoides.

Visando diminuir o erro de leitura e interpretação do percentual de reação ao HOST, foi utilizada a fórmula proposta por Melo e Henry (1999), na qual, contando-se 100 células que apresentem endosmose positiva (cauda enrolada), se subtrai as anormalidades

espermáticas das alterações resultantes da incubação espermática em meio hiposmótico $HOST\% = (\% \text{ de alterações na região da cauda após teste hiposmótico}) - (\% \text{ de alterações na região da cauda antes do teste hiposmótico})$. As análises foram realizadas na Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) no Laboratório de Andrologia (ANDROLAB).

4.8.3. Avaliação da integridade do acrossoma

Para avaliação da integridade do acrossoma, uma alíquota do sêmen foi diluído em uma solução de TRIS® (Tris-hidroximetil-aminometano) na proporção de 1:10 (10µL de sêmen em 90µL de solução). Em seguida foi colocada outra alíquota desta solução em duas lâminas de microscopia e feito dois estiraços de cada animal. Após a secagem estes foram identificados com data, número do animal e armazenadas em geladeira (5°C) até o momento da leitura. As análises foram realizadas na UFRPE no ANDROLAB.

Para análise da integridade da membrana acrossomal externa, estas lâminas foram associadas a uma sonda fluorescente de isotiocianato e lecitina de *Pisum sativum* (FITC-PNA), utilizando a metodologia descrita por Sousa et al. (2010), fazendo com que essa sonda cubra todo o estiraço, em seguida armazenado em geladeira por 20 minutos, protegido da luz. Passado esse tempo estas lâminas foram lavadas em solução de PBS® e secas naturalmente, em seguida foi realizada a leitura em microscopia de epifluorescência. Foram contadas 200 células por amostra usando um filtro LP 515 nm para emissão e um filtro BP 450-490 nm para excitação. As células íntegras tem sua membrana de constituição glicoproteica associada a sonda reagindo ao teste de fluorescência e ficando com o acrossoma de cor esverdeada.

4.9. Delineamento Experimental

Os dados obtidos foram analisados através do Statistical Analyses System (SAS 9.0) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

5. Resultados e Discussão

5.1. Bioclimáticos

A temperatura ambiente (TA) a partir das 7 h foi crescente ao longo do dia (Figura 9), sendo que as 12 h foi observada a TA-SOL máxima (34,2°C), enquanto que TA-SOMBRA máxima (31°C) foi atingida às 15 h, e estas temperaturas encontram-se fora da zona de conforto térmico (ZCT) para os ovinos, que encontra-se nos 30°C, (BAETA & SOUZA, 2010). As temperaturas no curral do sol se mantiveram dentro da ZCT das 7 as 9 horas, já no curral da sombra, as temperaturas se mantiveram dentro da ZCT das 7 as 14 horas e a partir das 16:30, segundo estes mesmos autores. A partir das 10 horas da manhã, o curral exposto ao sol passou a ser submetido a uma temperatura ambiental superior à Temperatura que ficasse dentro da ZCT dos animais. No curral a sombra a temperatura ambiente ultrapassou a ZCT a partir das 14 h, mantendo-se acima desta ate às 16 horas. Apesar dessas elevações de temperaturas durante parte do dia nota-se que em nenhum dos horários avaliados nos dois currais a temperatura ambiente ultrapassou a temperatura crítica efetiva para ovinos que é de 35°C (BAÊTA E SOUZA, 2010).

Estudos realizados com caprinos no semiárido paraibano relataram redução da concentração espermática de reprodutores submetidos ao estresse térmico Silva et al. (2005).

Salles (2010) denotou que elementos climáticos influenciaram diretamente os parâmetros reprodutivos de machos caprinos, a elevação da temperatura ambiental diminuiu afetou a qualidade seminal, reduzindo a quantidade de espermatozoides viáveis e aumentando a quantidade de patologias espermáticas do ejaculado.

Moreira et al. (2001), concluiu que o estresse térmico ocasionou efeitos deletérios tanto na espermatogênese como no processo de maturação dos espermatozoides, sendo a motilidade e a porcentagem de patologias espermáticas, as características que apresentam maior sensibilidade ao estresse térmico.

Durante parte do dia a temperatura sofreu elevações ao longo de todo experimento, durante os horários em que as temperaturas ambientais se situaram acima da ZCT para os animais, e em específico para os reprodutores, esse fator influencia diretamente o bem estar dos mesmos, alterando suas funções reprodutivas, reduzindo a qualidade seminal, e gerando um maior valor de patologias espermáticas.

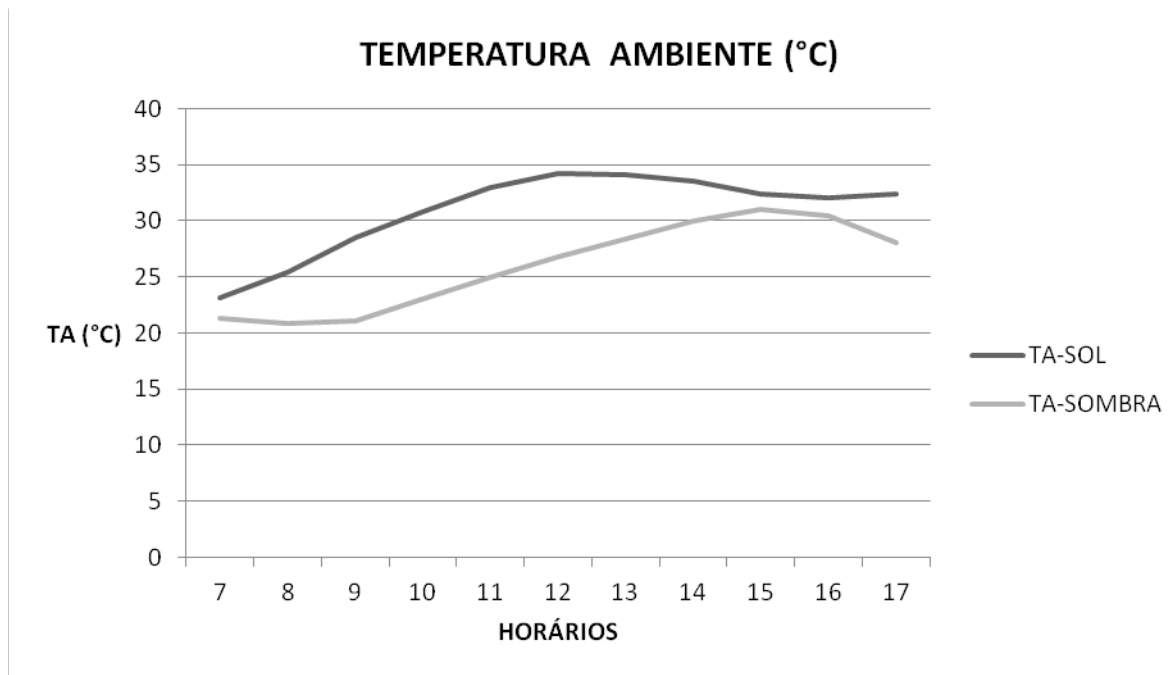


Figura 9. Temperatura ambiente ao longo do dia nos ambientes experimentais.

A umidade relativa do ar (UR) conforme o apresentado na figura 10 os maiores valores ocorreram no início da manhã (7 as 8 h), onde a UR-SOL às 7 h foi de 82,4% e a UR-SOMBRA às 8 h foi de 89,2%, valores considerados acima da zona de conforto térmico (ZCT), segundo Baeta e Souza (2010), cuja UR deve situar-se entre 40 e 70%. A UR é de extrema importância para os animais quando a temperatura do ar ultrapassa a ZCT, porque interfere na eficiência da evaporação, que é o principal processo de perda de calor, portanto uma elevada umidade relativa do ar associada a temperaturas do ar elevadas pode comprometer o bem-estar e a produtividade animal (BAÊTA et al., 1997).

A UR-SOMBRA no horário das 14 as 17 h ficaram abaixo dos valores recomendados para proporcionar um conforto aos animais, esta baixa UR associada com altas temperaturas resulta em estresse térmico nos animais, que, dependendo da intensidade e/ou duração pode resultar em decréscimo na produção animal, além de distúrbios reprodutivos (ANDRADE, 2006). Observa-se que ao longo do dia houve uma amplitude térmica e uma variação da umidade que podem ser considerados elevados, levando os reprodutores a se ajustarem a essas variações ao longo do dia muito rápido, o que também pode comprometer os processos reprodutivos.

De acordo com Saraiva et al. (2011), analisando do ponto de vista térmico, o fato da UR ser inversamente proporcional ao aumento da temperatura ambiente é bom para o animal pois favorece os processos evaporativos, que representam a manutenção dos mecanismos de

termorregulação dos animais homeotérmicos, desde que as faixas estejam dentro da ZCT, ou até mesmo próximas a esta.

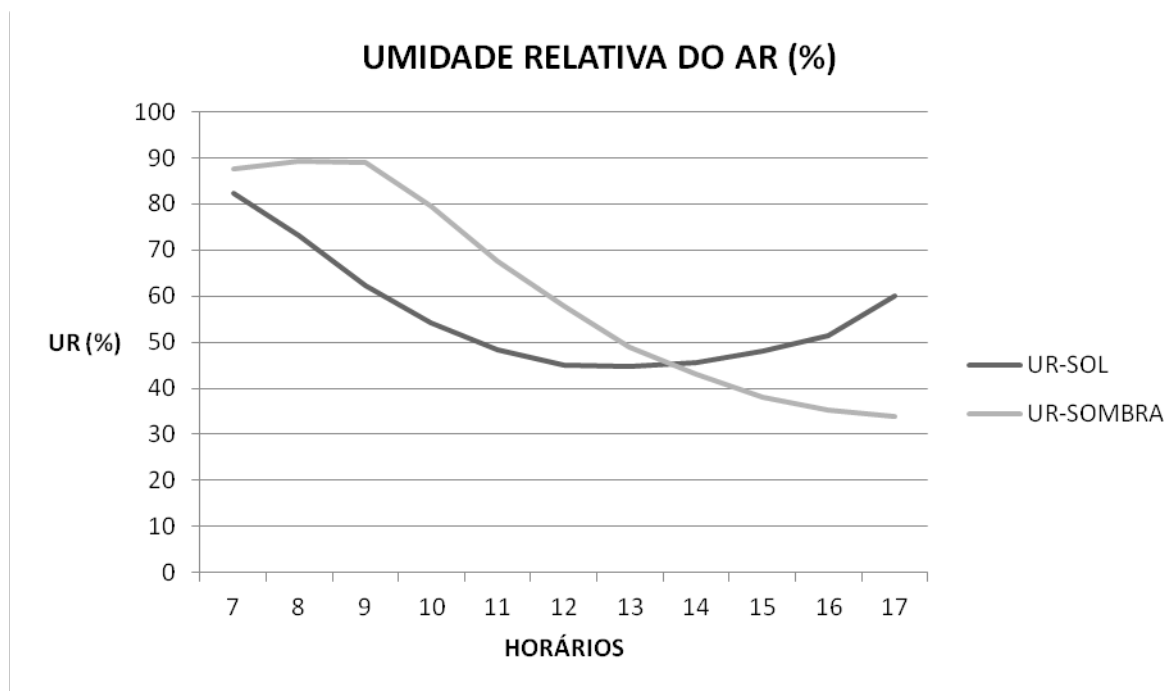


Figura 10. Umidade relativa do ar ao longo do dia nos ambientes experimentais.

De acordo com a figura 11, pode-se observar que o ITGU teve um comportamento parecido com a TA, de maneira crescente até às 13 horas, posteriormente decrescendo.

Segundo Andrade (2006), um ambiente com ITGU de até 85,1 não pode ser classificado como perigoso para ovinos da raça Santa Inês, este fato é explicado pela constatação do alto grau de adaptabilidade destes animais às condições climáticas do semiárido, evidenciando a necessidade de mais pesquisa com ovinos para se estabelecer valores mais corretos para estes animais no semiárido brasileiro.

Valores de ITGU até 79 indicam ambiente de conforto térmico para ovinos das raças Santa Inês, Morada Nova e mestiços destas com Dorper, nas condições climáticas do trópico semiárido nordestino (SANTOS, 2004). De acordo com estes valores, observa-se que em ambos os turnos, o ITGU apresentou-se elevado, a partir das 9 horas houve uma situação de desconforto térmico mais intenso para os animais.

Santos et al. (2011) avaliando ovinos da raça Santa Inês sob pastejo em condições climáticas semelhantes às do estado de Pernambuco, registraram valores de ITGU de até 102 em determinados períodos do dia, considerados como crítico para os animais.

Segundo Santos et al. (2011), avaliando ovinos da raça Santa Inês sob pastejo em condições climáticas semelhantes às do estado de Pernambuco, registraram valores de ITGU de até 102 em determinados períodos do dia, considerados como crítico para os animais.

A partir da análise do ITGU nos ambientes experimentais, certificou-se que a situação é preocupante para os animais do curral ao sol, considerando que o valor mínimo entre as médias de ITGU foi de 74,95 às 7 horas, com as demais superiores a isto, chegando até próximo de 97.

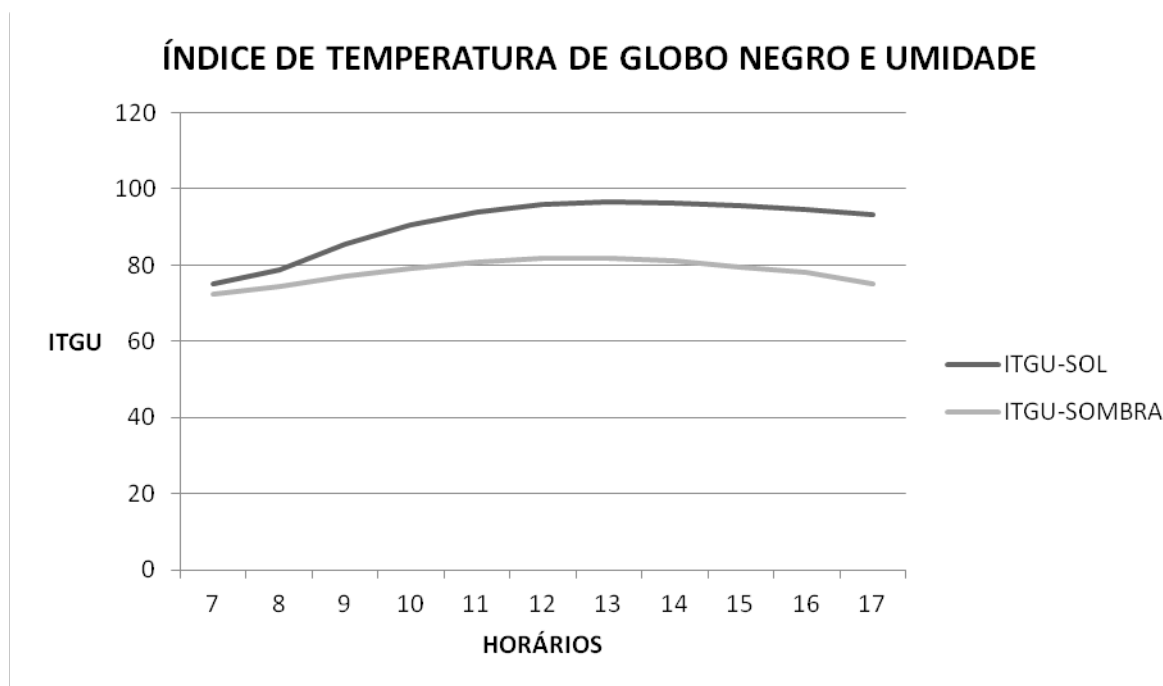


Figura 11. ITGU ao longo do dia nos ambientes experimentais.

Na análise das Figuras 9 e 11 observa-se que ocorreu uma redução na TA e no ITGU no ambiente sombreado, que é essencial para que os animais desenvolvam o potencial produtivo em climas quentes. Neste experimento, houve uma redução, mas os animais ficaram nos horários mais quentes do dia em situação de desconforto térmico.

Chiquitelli Neto (2002) em seu trabalho ofereceu sombra artificial para tourinhos da raça Brangus em idade púbere e observou que a estrutura de sombrite proporcionou aumento significativo nos percentuais de motilidade espermática dos touros que recebiam esse recurso. Resultados expressivos podem ser percebidos com a utilização de sombreamento adequado, onde, a sensibilidade dos animais ao estresse pelo calor é diretamente proporcional ao nível de produção destes, indicando que a carência de sombras adequadas, é prejudicial, podendo causar efeitos irreversíveis na reprodução.

Tabela 1. Médias da temperatura retal (TR) de ovinos da raça Dorper e Santa Inês submetidos a ambiente de sol e sombra no semiárido paraibano.

HORA	SOL		SOMBRA	
	Santa Inês	Dorper	Santa Inês	Dorper
8	38,5 Bb	39,0 Aa	38,5 Ab	37,8 Bb
11	38,6 Ba	39,2 Aa	38,7 Aa	39,2 Aa
14	38,6 Ba	39,2 Aa	38,8 Aa	39,0 Aa
17	39,5 Aa	39,3 Aa	38,9 Ab	39,7 Aa
Média	38,8	39,2	38,7	39
CV(%)	0,88	0,88	0,89	0,87

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na coluna e minúsculas na linha diferem estatisticamente entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

De acordo com a análise de variância houve interação significativa ($P < 0,05$) entre os fatores raça, ambiente e horário de coleta para a temperatura retal (Tabela 1), e analisando os diferentes horários, às 8 horas os animais da raça Dorper expostos ao sol apresentaram maiores TR que os expostos a sombra, entre os animais da raça Santa Inês não houve diferença significativa ($P > 0,05$) nos dois ambientes.

As 11 e 14 horas a TR foi semelhante para todos os animais, evidenciando que com a elevação da TA e ITGU e com diminuição da UR, que apenas o sombreamento não foi suficiente para que houvesse alteração na TR dos animais.

No horário das 17 horas para os animais da raça Dorper apenas o sombreamento não foi suficiente para que houvesse uma diminuição na TR. Os animais da raça Santa Inês mantidos a sombra apresentaram menores valores de TR, evidenciando desse modo sua menor capacidade de acumulo de calor e que o sombreamento para estes animais foi mais eficiente.

Ao avaliar as raças em horários distintos pode-se notar que apenas às 17 horas os animais da raça Santa Inês que foram submetidos ao sol ocorreu diferença estatisticamente significativa ($P < 0,05$) entre os animais, apresentando maior temperatura nesse horário, e nos animais à sombra não houve diferença entre os horários analisados.

Apenas às 8 horas nos reprodutores Dorper mantidos a sombra houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre os animais, apresentando valores mais baixos. Em todos os horários e ambientes analisados a TR dos animais manteve-se dentro da normalidade para a espécie, que é de 38,5 a 39,9 °C. Segundo Cunningham (2004), animais mantidos em ambientes considerados estressantes, com alta TA e ITGU e baixa UR, os animais conseguem manter esta variável fisiológica dentro da normalidade, salientando a sua capacidade adaptativa as condições semiáridas brasileiras.

Trabalhando com ovinos de diferentes raças, entre elas Santa Inês, na região semiárida brasileira, Santos et al. (2003) observaram que os animais também estiveram sob estresse

térmico, mas tiveram uma temperatura retal média de 39,5°C no turno da tarde e de 39,3°C para o turno da manhã. A elevação da temperatura retal para 39-39,5°C resulta no aparecimento de espermatozoides anormais no ejaculado.

Tabela 2. Médias da frequência respiratória (FR) de ovinos da raça Dorper e Santa Inês submetidos a ambiente de sol e sombra.

HORA	SOL		SOMBRA	
	Santa Inês	Dorper	Santa Inês	Dorper
8	87,7 Cb	93,4 Ca	82,3 Bb	88,7 Ba
11	103,9 Aa	107,8 Ba	87,9 Ab	119,7 Aa
14	108,9 Ab	124,8 Aa	94,3 Ab	117,7 Aa
17	97,7 Bb	111,6 Aa	91,8 Ab	98,1 Ba
Média	99,5	109,4	89,1	106
CV(%)	5,98	5,44	6,68	5,61

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na coluna e minúsculas na linha diferem estatisticamente entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Entre os fatores raça, ambiente e horário de coleta para a frequência respiratória (Tabela 2) houve interação significativa ($P < 0,05$), observa-se também na Tabela 2 que às 8 horas os animais da raça Santa Inês expostos ao sol e a sombra apresentaram os menores valores, que foram iguais significativamente ($P > 0,05$), e os reprodutores Dorper expostos ao sol e a sombra os maiores valores, também sem diferença significativa, desse modo demonstra-se que os reprodutores da raça Santa Inês nos horários mais frios conseguem manter uma FR menor em relação aos Dorper. Às 11 horas apenas os animais Santa Inês expostos a sombra apresentaram valores inferiores aos demais (87,9 mov/min).

Para os animais Dorper o sombreamento neste horário não foi suficiente para baixar esta variável fisiológica. As 14 e 17 horas os animais apresentaram uma FR alta, principalmente no horário das 14 horas, devido às condições climáticas que estavam submetidos. Os animais da raça Santa Inês mais uma vez utilizaram-se menos da FR como medida de eliminação de calor corporal em relação aos animais da raça Dorper, apresentando valores mais baixos, demonstrando sua adaptabilidade ao semiárido. Entre as raças nestes horários o sombreamento não foi suficiente para propiciar um ambiente mais confortável.

Segundo Reece (1996), a frequência respiratória considerada normal da espécie ovina é de 16 a 34 mov./min., desse modo a FR apresentou-se muito acima da considerada normal para a espécie demonstrando que a temperatura ambiente elevada, em ambos os horários, promoveu uma maior perda de calor pela respiração, que ocorreu pela ativação do sistema termorregulatório.

Neiva et al. (2004) e Cezar et al. (2004) observaram, em ovinos Santa Inês mantidos ao sol a tarde, em temperatura ambiente de 32 e 33,2°C, obtiveram valores de 91 e 115,4 mov/min, respectivamente, exigindo que o animal tenha um maior dispêndio de energia para manter a homeotermia.

A frequência respiratória elevada pode ser uma maneira eficiente de perder calor por curtos períodos, mas caso seja mantida por várias horas, poderá resultar em sérios problemas para os animais, podendo interferir na ingestão de alimentos e na ruminação, assim como, desviar a energia que poderia estar sendo utilizada em outros processos metabólicos e produtivos (SOUZA et al., 2005).

Segundo Filho et al., (2011) altas frequências respiratórias não significam necessariamente que o animal está em estresse térmico, ou seja, se a frequência respiratória estiver alta, mas o animal foi eficiente em eliminar calor, mantendo a homeotermia, pode não ocorrer estresse térmico. Isso é variável de ambiente para ambiente, dependendo da eficácia dos mecanismos de calor sensível (condução, convecção e radiação), pois, se estes não são eficazes, o organismo animal utiliza mecanismos de dissipação de calor insensível, como a sudorese e/ou frequência respiratória, para manter a homeotermia.

Tabela 3. Médias da frequência cardíaca (FC) de ovinos da raça Dorper e Santa Inês submetidos a ambiente de sol e sombra no semiárido paraibano.

Hora	SOL		SOMBRA	
	Santa Inês	Dorper	Santa Inês	Dorper
8	91,8 Ba	100,5 Ca	88,4 Bb	94,9 Cb
11	102,9 Aa	106,3 Ba	99,1 Aa	107,6 Aba
14	103,0 Aa	112,8 Aa	98,1 Aa	110,3 Aa
17	98,31 Aa	110,7 Aa	85,9 Bb	103,8 Ba
Média	99,0	107,6	92,8	104,1
CV(%)	2,7	2,5	2,9	2,6

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na coluna e minúsculas na linha diferem estatisticamente entre si (P<0,05) pelo teste de Tukey.

De acordo com a Tabela 3, a análise de variância apresentou interação significativa (P<0,05) entre os fatores raça, ambiente e horário de coleta para a frequência cardíaca. E na análise dos horários, observa-se que houve diferença significativa (P<0,05) no horário das 8 horas nos animais expostos ao sol e a sombra, com menores valores nos animais do ambiente a sombra. As 11 e às 14 horas a FC não apresentou diferença significativa (P>0,05) entre os animais e os tratamentos, mostrando novamente que apenas o sombreamento nos horários mais quentes do dia é insuficiente para proporcionar bem estar aos animais. Às 17 horas,

apenas os reprodutores da raça Santa Inês expostos a sombra apresentaram menor FC em relação aos outros animais e tratamentos, que foram iguais entre si. Demonstrando que esses animais eliminam de forma mais rápida o calor acumulado, que tem influencia direta do sombreamento que estava submetido durante o período experimental.

Ao comparar as raças nos diferentes horários estudados, pode-se observar que 100% dos animais apresentaram um FC mais baixa às 8 horas, em relação aos outros horários, as 11, 14 e 17 horas os animais da raça Santa Inês submetidos ao sol apresentaram FC igual para todos os horários analisados, na raça Dorper houve uma elevação da FC às 11 horas em relação as 8 horas e nos horários das 14 e 17 a FC dos animais foram semelhantes. Os animais submetidos ao sombreamento nos horários das 11 e 14 horas, apresentaram elevação da FC, que foi reduzida no horário das 17 h, isto em razão da redução da TA e do ITGU.

Martins Júnior et al., (2007) citam que para ovinos e caprinos a media da FC é de 70 a 80 bat./min., que podem ser influenciados por fatores como trabalho, alimentação e estresse térmico.

Neste trabalho os valores encontrados foram próximos aos valores encontrados por Cezar et al. (2004) que registraram em ovinos Santa Inês sob temperaturas médias de 23 e 33°C, frequências cardíacas de 105,67 e 115,3 mov./min., respectivamente.

Tabela 4. Médias da temperatura superficial (TS) de ovinos da raça Dorper e Santa Inês submetidos a ambiente de sol e sombra no semiárido paraibano.

Hora	SOL		SOMBRA	
	Santa Inês	Dorper	Santa Inês	Dorper
8	34,2 Ba	31,2 Bb	32,5 Aa	32,0 Ba
11	38,5 Aa	39,1 Aa	35,3 Ab	35,7 Ab
14	41,5 Aa	39,1 Aa	35,3 Ab	35,7 Ab
17	34,2 Ba	33,8 ABa	34,4 Aa	33,7 Ba
Média	37,1	34,1	34,4	36
CV(%)	5,6	6,1	6,5	5,7

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na coluna e minúsculas na linha diferem estatisticamente entre si (P<0,05) pelo teste de Tukey.

De acordo com a análise de variância houve interação significativa (P<0,05) entre os fatores raça, ambiente e horário de coleta para a temperatura superficial (Tabela 4). Fazendo uma análise nos horários, pode-se observar que às 8 horas os animais da raça Dorper submetidos ao sol apresentaram uma TS mais baixa que os outros animais, este fato pode ser explicado pela tonalidade clara de sua pelagem, que sendo ela de cor branca tem uma tendência maior a refletir a radiação incidente. As 11 e às 14 horas os animais expostos à

sombra apresentaram menor TS em relação aos expostos ao sol, isto pela influência do sombreamento que protegeu os animais da radiação solar direta.

Observa-se que os animais da raça Santa Inês, mesmo com pelagem de cor preta, que absorve mais calor, tiveram a TS semelhante ao do Dorper, que tem uma pelagem mais clara, portanto a emissão de calor pelos animais foi similar. Os animais Santa Inês conseguiram manter a TS próxima aos animais da raça Dorper.

No horário das 17 horas todos os resultados foram semelhantes, isto se deve a influência dos fatores ambientais. Interpretando os dados obtidos neste experimento, chega-se à conclusão que independente da cor da pele e dos pelos, ambas as raças apresentam um comportamento similar quando submetidos ao ambiente sem sombreamento.

Souza et al. (2008) cita que o redirecionamento do fluxo sanguíneo para a superfície corporal e a vasodilatação, aumentando a temperatura da pele, facilita a dissipação de calor por mecanismos não evaporativos (condução, convecção e radiação). Quando a temperatura do ar se eleva, o gradiente térmico entre a superfície do corpo e o meio decresce, dificultando a dissipação de calor, tendo o animal que lançar mão de mecanismos evaporativos (sudorese e/ou frequência respiratória) para perder calor.

Salles (2010) encontrou valores para temperatura superficial no mesmo período do ano, de 36°C em caprinos da raça Saanen, ficando um pouco abaixo dos valores que foram obtidos nos animais experimentais localizados ao sol, mas estando dentro dos valores encontrados para os animais localizados a sombra.

Já Silva et. al. (2005) para caprinos da raça Anglo Nubiana encontrou valores inferiores aos encontrados para ambas as raças ovinas estudadas 33,3°C mesmo sendo realizado experimentos no mesmo período do ano.

As temperaturas superficial e retal, as frequências respiratória e cardíaca foram as maiores nos animais localizados ao sol, pois a elevação da temperatura superficial faz com que o animal desencadeie um processo fisiológico para manter a normotermia, a termólise, elevando as frequências respiratória e cardíaca, além de uma vasodilatação periférica, visando à normalização da temperatura corporal, elevando assim a temperatura retal.

5.2. Parâmetros Seminais

Os parâmetros seminais de carneiros da raça Santa Inês e Dorper diferiram de forma significativa ($P < 0,05$) para os distintos locais, raças e colheitas. Por não apresentarem efeito de interação as mesmas foram discutidas isoladamente, (Tabela 5).

Tabela 5. Média dos parâmetros seminais de carneiros segundo os locais (Sol e sombra), raças (Santa Inês e Dorper) e colheitas (1, 2 e 3) distintos.

Parâmetros ¹	Local ²		CV (%)	Raça ³		CV (%)	Colheitas ⁴			CV (%)
	SOM	SOL		S.I	DOR		1	2	3	
TUR (0-5)	3,53 ^A	2,70 ^B	8,58	3,28 ^A	3,0 ^A	3,19	3,50 ^A	3,00 ^A	2,93 ^A	1,82
MOT (%)	70,38 ^A	55,83 ^B	6,03	68,8 ^A	58,0 ^B	6,33	69,37 ^A	61,38 ^A	59,68 ^A	1,41
VIG (0-5)	3,53 ^A	2,79 ^B	6,58	3,40 ^A	2,96 ^A	3,51	3,56 ^A	2,83 ^A	3,18 ^A	2,23
VOL (ml)	1,71 ^A	1,50 ^B	8,31	1,62 ^A	1,60 ^A	0,59	1,53 ^B	1,47 ^B	1,84 ^A	3,37
CONC (10 ³ /ml)	1,64 ^A	1,31 ^B	5,22	1,65 ^A	1,31 ^B	7,37	1,56 ^A	1,48 ^A	1,41 ^A	0,43
AI (%)	60,84 ^A	21,58 ^B	26,87	42,48 ^A	41,52 ^A	0,26	52,93 ^A	34,66 ^A	39,31 ^A	2,66
AL (%)	39,15 ^B	78,41 ^A	26,87	57,52 ^A	58,48 ^A	0,26	47,06 ^A	65,33 ^A	60,68 ^A	2,66
HI (%)	44,30 ^A	36,33 ^B	17,66	41,16 ^A	39,80 ^A	0,42	38,31 ^A	41,88 ^A	41,06 ^A	1,86
HL (%)	55,69 ^B	63,66 ^A	17,66	58,84 ^A	60,20 ^A	0,42	61,68 ^A	58,11 ^A	58,93 ^A	1,86

¹ Parâmetros reprodutivos TUR (turbilhamento), MOT (motilidade), VIG (Vigor), VOL (volume), CONC (concentração), AI (acrossoma íntegro), AL (acrossoma lesado), HI (Membrana íntegra ao teste hiposmótico), HL (membrana lesada ao teste hiposmótico);

² Locais realizados as colheitas - SOM (sombra) e SOL (Sol);

³ Raças utilizadas S.I (Santa Inês) e DOR (Dorper)

⁴ Colheitas 1 (ao início do experimento), 2(20 dias após o início do experimento); 3 (40 dias após o início do experimento)

Médias seguidas de letras diferentes na linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade para o mesmo parâmetro.

Os parâmetros seminais avaliados de carneiros Dorper e Santa Inês no que se refere ao turbilhamento (TUR), motilidade (MOT), vigor (VIG), volume (VOL), concentração (CONC), acrossoma íntegro (AI) e membrana íntegra ao teste hiposmótico (HI) apresentaram diferença significativa ($P < 0,05$) para os distintos locais, com maiores médias para todos esses parâmetros no ambiente sombra. Resultado esse ligado a um maior conforto térmico propiciado aos animais alocados nesse ambiente, com temperaturas médias de 26 °C, encontrando-se dentro da faixa de conforto térmico para ovinos, que segundo Baêta & Souza (2010) variam de 15 °C a 30 °C.

Resultado esse semelhante aos encontrados por Nunes (1988), que observou os melhores resultados quanto aos parâmetros seminais durante época de temperatura mais amena, diferente dos resultados encontrados para época de temperatura mais elevada. Simplício (2000) conota que com o aumento da temperatura testicular devido a uma elevação

da temperatura ambiental, ocorre uma acentuada redução dos parâmetros seminais de caprinos, independente do genótipo.

Os resultados obtidos de acrossomo lesionado (AL) e membrana lesada ao teste hiposmótico (HL) apresentaram-se superiores para os animais expostos ao ambiente sol. Resultados esses em decorrência à temperatura elevada, assim como a exposição dos animais diretamente ao sol. Várias pesquisas apontam que a exposição dos ovinos a temperaturas elevadas resulta em prejuízos na reprodução (ADBEL HAFEZ, 2002), por propiciar degeneração testicular (VOGLE et al. 1991), e interferir na espermatogênese prejudicando a qualidade seminal e fertilidade de carneiros (MIEUSSET et al,1992). Pinto et al. (2001) acrescenta ainda que o estresse térmico por calor, pode provocar a interrupção temporária na produção de espermatozoides, motilidade espermática e outros.

Ao se reportar aos parâmetros seminais de TUR, MOT, VIG, VOL, CONC, AI e HI, os mesmos apresentaram maior média para os carneiros da raça Santa Inês, já os parâmetros AL e HL em termos numéricos, os mesmos foram acentuados aos carneiros da raça Dorper.

Os resultados obtidos para a raça Santa Inês são semelhantes aos encontrados por Martins et al. (2003) quanto a turbilhamento, motilidade, vigor e normalidade de espermatozoides numa ordem de 1,98; 63,92%; 1,99; e 78% respectivamente. Assim como aos achados de Pacheco et al. (2009) com motilidade, vigor, turbilhamento, volume e concentração numa ordem de 65,9%; 3,9; 3,8; 0,7 ml e $1616,7 \times 10^6$ ml, respectivamente.

Os resultados seminais da raça Dorper encontrados nessa pesquisa foram inferiores aos encontrados por Maia et al. (2011) em levantamento realizado no Rio Grande do Norte, quanto ao volume, concentração, motilidade e vigor de 1,1 ml; 2250×10^6 ml; 72% e 4,2.

As maiores médias dos parâmetros encontrados nessa pesquisa podem estar relacionadas pela adaptabilidade da raça Santa Inês às condições climáticas do local, diferente da raça Dorper, que além de ser considerada uma raça exótica, possui uma maior espessura de pele (CRUZ JUNIOR, 2011) o que dificulta a transferência térmica, resultando em prejuízos na qualidade seminal e reprodução (ADBEL HAFEZ, 2002).

Cruz Junior (2011) afirma que em geral ovinos com menor quantidade de pêlos podem ser mais bem adaptados ao estresse térmico do que aqueles que possuem lã (FINCH et al. 1984; YEATES, 1955), como são o da raça Dorper, onde quanto menor é o número de pelos por unidade de área, mais facilmente o vento penetra na capa e remove o ar aprisionado entre os pelos, o que vai favorecer a transferência térmica.

Stone et al. (1992) conota que a espessura da capa altera a quantidade de energia metabolizável necessária para a manutenção, ocasionando dificuldade em liberar o calor

latente do corpo do animal, o organismo então utiliza mecanismos compensatórios que levam à gasto de energia, sendo desfavorável para os animais destinados a produção. Caso esse que não ocorreu aos carneiros da raça Santa Inês do presente estudo.

O parâmetro VOL apresentou diferença significativa ($P < 0,05$) entre as colheitas realizadas, com maior média (1,84 ml) na terceira colheita realizada, independente da raça e local, diferindo da primeira colheita (1,53 ml) e segunda (1,47 ml) que respectivamente apresentaram as menores médias para esse parâmetro.

Conforme Chemineau et al. (1991) diferenças são constantemente encontradas nos parâmetros seminais de ovinos bem como na produção espermática diária. Pesquisadores atribuem estas diferenças mais a variação no perímetro testicular do que propriamente pela raça (SILVA & NUNES, 1984). E, apesar dessas variações acontecerem, Cruz Junior (2011) aponta que estas diferenças podem ocorrer provavelmente pelas condições de manejo na qual os reprodutores são manuseados constantemente.

Maia et al. (2011) em revisão realizada constatam que vários estudos estão sendo realizados quanto a influência da época do ano (seca ou chuvosa) na qualidade seminal de carneiros, e em geral, apontam que ovinos da raça Dorper são bem adaptadas a região semiárida, não sofrendo influência dos fatores climáticos sobre a qualidade do sêmen (FRAZÃO SOBRINHO et al., 2009), resultado esse não semelhante ao encontrado pela atual pesquisa, demonstrando diminuição da qualidade seminal de carneiros Dorper quando expostos a temperaturas elevadas.

A análise estatística mostrou efeito significativo ($P < 0,05$) da temperatura testicular à altura do cordão espermático para os diferentes horários avaliados, (Tabela 6).

Tabela 6. Média das temperaturas superficiais do testículo de carneiros em função do local, raça e horários de avaliação.

Parâmetros ¹ (°C)	Local ²		CV (%)	RAÇA ³		CV (%)	Horários ⁴ (h)				CV (%)
	SOM	SOL		S.I	DOR		08	11	14	17	
TCE	33,0 4	32,8 8	0,28	32,7 0	33,2 1	2,89	31,16 ^C	33,60 ^{AB}	34,49 ^A	32,58 ^B	22,20
TM	31,2 7	32,1 0	2,55	31,6 0	31,7 9	0,13	31,19	31,53	32,73	31,34	1,71
TB	30,5 0	31,3 6	2,16	30,7 5	31,1 1	0,38	30,25	30,90	32,17	30,40	2,22

¹ Parâmetros reprodutivos TCE (temperatura testicular à altura do cordão espermático), TM (temperatura testicular ao meio do testículo), TB (temperatura testicular à base do testículo)

² Locais realizados as colheitas - SOM (sombra) e SOL (Sol);

³ Raças utilizadas S.I (Santa Inês) e DOR (Dorper)

⁴ Horários de colheitas 08h, 11h, 14h e 17h;

Médias seguidas de letras diferentes na linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade para o mesmo parâmetro.

As temperaturas testiculares aferidas (TCE, TM e TB) não sofreram influência quanto os diferentes locais (animais expostos ao sol e a sombra), e as distintas raças (Santa Inês e Dorper). Conforme Kastelic et al. (1995) os testículos dos mamíferos encontram-se alojados no interior da bolsa escrotal, e mantêm-se a uma temperatura entre 2 ° e 6 °C abaixo da temperatura corporal. Temperaturas superficiais médias encontradas do presente estudo variaram de 32 °C a 41 °C para a raça Santa Inês e 31 °C a 39 °C para a raça Dorper, sendo superiores aos resultados obtidos de temperatura testicular, demonstrando eficiência da termorregulação escroto-testicular.

Coulter e Kastelic (1994) conotam que vários fatores contribuem para a termorregulação escroto-testicular, incluindo a estrutura peduncular do escroto e a vascularização testicular que por meio do plexo pampiniforme, reduz a temperatura escrotal pela troca de calor entre o sangue circulante na artéria e na veia testicular, com importante participação das glândulas sudoríparas que favorecem a evaporação diminuindo por sua vez a temperatura escrotal (BLAZQUEZ et al. 1988).

A temperatura testicular à altura do cordão espermático (TCE) apresentou efeito significativo ($P < 0,05$) para os diferentes horários aferidos, com maior temperatura testicular às 14h (34,49 °C), e menor temperatura testicular às 08h (31,16 °C). Comportamento esse devido às condições climáticas do local, com temperaturas elevadas, principalmente às 14h, evidenciando temperaturas ambientais no ambiente sol e sombra de 33,56 °C e 30,02 °C, respectivamente. Taylor e Bogart (1988) e Maia et al. (2007) abordam que a alta temperatura

ambiental aumenta significativamente a temperatura do escroto, sendo maior no verão quanto comparado ao inverno em carneiros (EL-DARAWANY, 1999).

Cruz Junior (2011) ao trabalhar com tolerância ao calor de reprodutores ovinos, encontrou temperatura testicular no pólo Sul de 29,49 °C (refere-se à base) e no polo Norte de 31,95 °C (refere-se ao topo), diferente aos encontrados na presente pesquisa, com uma maior temperatura de 34,49 °C no topo do testículo. Em pesquisa Kastelic et al. (1995) verificaram que o gradiente de temperatura testicular entre o topo e a base foi pronunciada na superfície escrotal (1,6 °C), menor nos tecidos subcutâneos escrotal (0,4 °C), e praticamente inexistente no parênquima testicular (0,1 °C). Esse gradiente negativo obtido da temperatura no testículo pode ser atribuído ao sangue dentro da ramificada artéria testicular, que promove o resfriamento entre a parte inferior dos testículos e o ponto de entrada no parênquima testicular.

O aumento ocorrido na temperatura testicular provoca alterações na formação dos espermatozoides, que conforme Setchell (1998) leva a diminuição da concentração espermática, motilidade, porcentagem de espermatozoides com morfologia normal.

6. Conclusões

O sombreamento, principalmente nos horários mais quentes do dia, não foi capaz de promover condições ideais para manter os animais na zona de conforto térmico.

Os índices fisiológicos dos animais da raça Dorper obtiveram valores mais elevados que os animais da raça Santa Inês, estes por sua vez mostraram ter melhor capacidade de dissipar calor durante o estresse térmico.

Os animais submetidos ao ambiente sombreado apresentaram melhor qualidade seminal que os animais submetidos ao sol.

O acrossomo e teste hiposmótico dos animais submetidos ao sombreamento apresentaram menores quantidades de membrana e acrossomo lesionados, tendo assim uma melhor qualidade em seus espermatozoides.

7. Referências Bibliográficas

ABDEL-HAFEZ, M. A. M. Studies on the reproductive performance in sheep. Zagazig, Egypt: Faculty of Agriculture, Zagazig University, 2002. Ph.D. thesis.

ACHARYA, R. M.; GUPTA, U. D.; SEHGAL, J. P.; SINGH, M. Coat characteristics of goats in relation to heat tolerance in the hot tropics. *Small Ruminant Research*, v. 18, p. 245-248, 1995.

ALVES, S. G. G.; Avaliação do sêmen de caprinos da raça boer por meio do teste hiposmótico. 92 f. Dissertação de mestrado. Salvador – BA : EMV, UFBA, 2006.

ANDERSSON, B. E. Regulación de la temperatura y fisiología ambiental. In: DUKES, H. H.; SWENSON, M. J. *Fisiología de los animales domésticos*. 4. ed. Madrid: Aguilar, 1997. v. 2, cap. 49, p. 1422-42.

ANDRADE, I. S. Efeito do ambiente e da dieta sobre o comportamento fisiológico e o desempenho de cordeiros em pastejo no semiárido paraibano. 2006. 40 f. Dissertação de mestrado. Patos - PB: CSTR, UFCG, 2006.

ASSUMPÇÃO; M. E. O. D'AVILA; HAIPEÇK, K.; LIMA, A. S. et al. Capacitação espermática in vitro com heparina e cálcio ionóforo e sua correlação com a fertilidade em touros. *Brazilin Journal Veterinary Research and Animal Science*, v. 39, p.149-156, 2002.

AX, R.L.; DALLY, M.; 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., (Ed). *Reprodução Animal*. 7.ed. São Paulo: Editora Manole Ltda, 2003. p.369-379.

BAÊTA, F. C.; SOUZA, C. F. *Ambiência em edificações rurais: conforto animal*. Viçosa: UFV, 1997. 246 p.

BAETA, F. C. et al. Equivalent temperature index at temperatures above the thermoneutral for lactating dairy cows. *ASAE*, n. 874015. 1987. 21p.

BAÊTA, F. C. & SOUZA, C. F. *Ambiência em edificações rurais - Conforto animal*. 2.ed. Viçosa: UFV. 2010. 246p.

BIANCA, W. Rectal temperature and respiratory rate as indicators of heat tolerance in cattle. *Journal Agricultural Science*. v. 60, p. 113-120, 1963.

BARBOSA, R.O.; MACEDO, F. de A.F de.; GROES, R.V de.; GUEDES, J.M.F. Zoneamento bioclimático da ovinocultura no estado do Paraná. *Rev. Bras. Zootec.*, v.30, n.2, p. 454-460, 2001.

BARBOSA, O. R.; SILVA, R. G.; SCOLAR, J.; GUEDES, J. M. F. Utilização de um índice de conforto térmico no zoneamento bioclimático da ovinocultura. *Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia*, v. 24, n. 5, p. 661-671, 1995.

BEARDEN, H.J.; FUQUAY, J.W. *Applied Animal Reproduction*. New Jersey: Prentice-Hall, 4ª ed., 1997, 307p.

BIANCA, W.; KUNZ, P. Physiological reactions of three breeds of goats to cold, heat and high altitude. *Livestock production Science*, [S.l.], v. 5, n. 1, p. 57-69, 1978.

BLASQUEZ, N.B., MALLARD, G.F., WEDD, S.R. Sweat glands of the scrotum of the bull. **J. Reprod. Fert.**, v. 83, p.673-677, 1988.

BUFFINGTON, D. E.; COLLAZO-AROCHO, A.; CANTON, G. H. Black globe-humidity index (BGHI) as comfort equation for dairy cows. *Transactions of the ASAE, Michigan*, v. 24, n. 3, p. 711-714, 1981.

BRINSKO, S.P. Fisiologia reprodutiva do macho. In: CUNNINGHAM, J.G. (Ed). *Tratado de Fisiologia Veterinária*. 2.ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 1999. p.399-405.

CENA, K.; MONTEITH, J.L. Transfer processes in animal coats. III. Water vapor diffusion. *Proceedings of the Royal Society London, B Biological Sciences*, v.188, n.1, p.413-423, 1975.

CENTOLA, G.M.; MATTOX, J.H.; BURDE, S. et al. Assesment of the viability and acrossome status of fresh and frozen-thawed human spermatozoa using single-wave-length fluorescence microscopy. **Molecular Reproduction and Development**, v.27, n. 2, p.130-135, 1990.

CEZAR, M. F.; SOUZA, B. B.; SOUZA W. H.; PIMENTA FILHO, E. C.; TAVARES, G. P.; MEDEIROS, G. X. Avaliação de parâmetros fisiológicos de ovinos Dorper, Santa Inês e seus mestiços perante condições climáticas do trópico semi-árido nordestino. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 28, n. 3, p. 614-620, 2004.

Chemineau P, Cagnié Y, Guérin Y, Orgeur P, Vallet J-C. *Training manual on artificial insemination in sheep and goats*. Rome: FAO, 1991. 222p. (FAO Animal Production and Health, n.83).

[CHEMINEAU, P.; BARIL, G.; VALLET, J.C.; DELGADILLO, J.A. Control de la reproduccion en la especie caprina: interes zootecnico y metodos disponibles.](#) *Revista Latinoamericana de Pequeños Rumiantes*, v.1, n.1, p.15-38, 1993.

CORREA, J.R.; ZAVOS, P.M. The hypoosmotic swelling test: its employment as an assay to evaluate the functional integrity of the frozen-thawed bovine sperm membrane. *Theriogenology*, v.42, p.351-360, 1994.

CORTEEL, J.M.. Collection, processing and artificial insemination of goat semen. In: Gall, C. *Goat Production*. London: Academic Press, p.171-191, 1983

CUNNINGHAM, J.G. *Tratado de Fisiologia Veterinária*. 3 Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 579 p., 2004.

CRUZ JUNIOR, C.A. Tolerância ao calor em ovinos reprodutores criados no Distrito Federal. 2011.116 f. Tese de Doutorado. Brasília – DF: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária. UNB. 2011.

DAMASCENO, J.C., BACCARI JÚNIOR, F.; TARGA, L.A. Respostas fisiológicas e produtivas de vacas holandesas com acesso à sombra constante ou limitada. *Rev. Bras.Zootec.*, v.27, n.3, p.595-602, 1998.

DELL'AQUA JÚNIOR, J.A.; PAPA, F.O.; ZAHN, F.S; ALVARENGA, M.A.; LEONARDO, H. Novo teste osmótico de avaliação da integridade da membrana plasmática de sêmen congelado equino. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.26, n.3, p.189- 191, 2002.

DE LA SOTA, R.L.; RISCO, C.A.; MOREIRA, F.; et al. Efficacy of a timed insemination program in dairy cows during Summer heat stress. *Journal Animal Science*, Champaing,v.74, suppl. I, p. 133, 1996.

DE PAUW, I.M.C.; VAN SOOM, A.; MAES, D. et al. Effect of sperm coating on the survival and penetrating ability of in vitro stored bovine spermatozoa. ***Theriogenology***, v.59, n.5-6, p.1109-1122, 2003.

DERIVAUX, J. *Reprodução dos animais domésticos*. Zaragoza, Editora Acribia, 1980.

ENCARNAÇÃO, R. Estresse e produção animal. In: *CICLO INTERNACIONAL DE PALESTRAS SOBRE BIOCLIMATOLOGIA ANIMAL*, 1, 1999. Jaboticabal-SP. *Anais.Jaboticabal: FUNEP*, 1, 1984.p. 111-129.

EL-DARAWANY, A.A. Improving semen quality of heat stressed rams in Egypt. *Ind. J. Anim. Sci.* 69 (12), 1020–1023, 1999b.

EUSTÁQUIO FILHO, A.; TEODORO, S. M.; CHAVES, M. A.; SANTOS, P. E. F.; SILVA, M. W. R.; MURTA, R. M.; CARVALHO, G. G. P.; SOUZA, L. E. B. Zona de conforto térmico de ovinos da raça Santa Inês com base nas respostas fisiológicas. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.40, n.8, p. 1807- 1814, 2011.

FANGER, P. O. Conditions for thermal comfort introduction of a general comfort equation. In: HARDY, J. D.; GAGGE, A. P.; STOLWIJK, J. A. J. Physiological and behavioral temperature regulation. London: C. C. Thomas, 1970. p. 152-176.

FEHR, R. L.; PRIDDY, K. T.; MCNEILL, S. G.; OVERHULTS, D. G. Limiting swine stress with evaporative cooling in the Southeast. Transactions of the SAE, St. Joseph, v. 26, n. 12, p. 542-5, 1983.

FERREIRA, G.M.B.C.; SOUSA, J.P.F.; BARBAS, J.P.; HORTA, A.E.M. Teste de endosmose (HOST) em sêmen de caprinos da raça Serrana. In. CONGRESSO IBÉRICO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 3., 2001. Proceedings... 2001. p.559-564.

FIGUEIREDO, E.A.P.; ARRUDA, F.A.V.. Produtividade de ovinos Santa Inês, variedade preta e branca na região dos inhamus-Ceará. Sobral: EMBRAPA-CNPC, 5p (EMBRAPA-CNPC), 1980.

FONSECA, J. F.; TORRES, C. A. A.; ROVAY, H. et al. Hypoosmotic swelling test in goat spermatozoa. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v. 25, p. 436-457, 2001.

FONSECA, J. F.; TORRES, C. A. A.; MAFFILI, V. V. et al. The hypoosmotic swelling test in fresh goat spermatozoa. Animal Reproduction, v. 2, p. 139-144, 2005.

Frazão Sobrinho JM, Souza JAT, Costa APR, Nascimento IMRN, Souza Júnior A, Moraes Júnior FJ, Castelo Branco MA, Correia HS. Parâmetros seminais de carneiros Dorper, Santa Inês e SRD nas estações seca e chuvosa. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 18, 2009, Belo Horizonte. Anais... Belo Horizonte: CBRA, 2009. CD-ROM.

Freitas VJF, Nunes JF. Parâmetros andrológicos e seminais de carneiros deslanados criados na região litorânea do nordeste brasileiro em estação seca e chuvosa. Rev Bras Reprod Anim, v.16, p.95-104, 1992.

FREITAS, V.J.F; RODRIGUES, M.R.; SILVA, J.N. Produção espermática de ovinos das raças Santa Inês e Morada Nova. Revista Brasileira de Reprodução Animal. Belo Horizonte, p.208, Suplemento 1, 1989.

GALVANI, F.; COSTA, E.P.; TORRES, C.A.A. et al. Perímetro escrotal, características físicas do sêmen e morfopatológicas dos espermatozoides de touros Nelore de alta libido comparados com animais de libidos inferiores. **Ars Veterinária**, v.16, n.2, p.97-103, 2000.

GARCIA, A.S.S. Criação de Ovinos, Jaboticabal: Funep, 2001.

GARNER, D.L.; HAFEZ, E.S.E. Espermatozoide e plasma seminal. In: HAFEZ, E.S.E. & HAFEZ, B., (Ed). Reprodução Animal. 7.ed. São Paulo: Editora Manole Ltda, 2003. p.97-110

GARNER, D. L.; HAFEZ, E. S. E. Espermatozoides e plasma seminal. In: HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. Reprodução Animal, Barueri: Manole, 7ed, 2004, p. 97-110.

GRAVANCE, C.G.; LEWIS, K.M.; CASEY, P.J. Computer automated sperm head morphometry analysis (ASMA) of goat spermatozoa. **Theriogenology**, v.44, n.7, p.989-1002, 1995.

GUNN, S.A.; GOULD, T.C. Vasculature of the testes and adnexa. In: **Handbook of Physiology**, Section 7, Endocrinology; v. 5, Male Reproductive System. American Physiological Society, Washington, DC, p.117- 142, 1975.

HAFEZ, E.S.E. Reprodução animal. São Paulo, editora Manole, 1995.

HALES, J.R.S.; BROWN, G.D. Net energetic and thermoregulatory efficiency during panting in the sheep. *Comp. Biochemical Physiology.*, v.49, p.413-422, 1974.

HEAD, H. H. Management of dairy cattle in Tropical and subtropical environments. In CONGRESSO BRASILEIRO DE BIOCLIMATOLOGIA, Anais... Jaboticabal: SB Biomet. p. 26-68, 1995.

IBGE 2011, Disponível em: ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Producao_da_Pecuaria_Municipal/2011/tabelas_pdf/tab04.pdf, acessado em 20 de Outubro de 2012.

Kumagai J, Fukuda J, Kodama H. Germ cell-specific shock protein 105 binds to p53 in a temperature-sensitive manner in rat testis. *Eur J Biochem*, v.267, p.3073-3078, 2000.

LEGATES, J. E., FARTHING, B. R., CASADY, R. B. Body temperature and respiratory rate of lactating dairy cattle under field and chamber conditions. *Journal Dairy Science*, Champaign, v. 74, p. 2491-2500, 1991.

LEVA, P. Impacto ambiental en la producción lechera en la Cuenca Central Argentina. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BIOMETEOROLOGIA, 2., 1998, Goiânia. **Anais...** Goiânia: [s.n.], 1998. p. 120-136.

MEDEIROS, A.A.; ARAÚJO, A.A.; MOURA, A.A.A. et al. Utilização do Azul de Bromofenol conservado a 4°C e 29°C, como método coloração vital para avaliação do espermatozóide ovino. **Revista de Ciências Agrárias**, v.1, n.46, p.287-297, 2006.

MARAI, I.F.M.; EL-DARAWANY, A.A.; FADIEL, A. et al. Physiological traits as affected by heat stress in sheep—A review. **Small Ruminant Research**, v.71. p.1– 12, 2007.

MARIANTE, A.S.; ALBUQUERQUE, M.S.M.; RAMOS, A.F. Criopreservação de recursos genéticos animais brasileiros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 19., Recife. **Anais...** Belo Horizonte: Revista Brasileira de Reprodução Animal, v.35, n.2, p.64-68, 2011.

MARTINS JÚNIOR, L.M.; RIBEIRO, D.M.M.; COSTA, A.P.R.; TURCO, S.H.N.; MURATORI, M.C.S. Respostas fisiológicas de caprinos Boer e Anglo-nubiana em condições climáticas de meio-norte do Brasil. *Revista Caatinga*, v.20, n.2, p.1-7, 2007.

McDOWELL, R.E.; HOOVEN, N.W.; CAMOENS, J.K. Effects of climate on performance of Holsteins in first lactation. *Journal Dairy Science*, Champaign, v. 59, p. 965-973, 1976.

MELO, M.I.V. Teste hiposmótico na avaliação do sêmen eqüino. 1999. 67 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

MELO, M.I.V.; HENRY, M. Teste hiposmótico na avaliação do sêmen eqüino. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.51, n.1, p.71-78, 1999.

MENDONÇA, F. & DANNI-OLIVEIRA, I.M. *Climatologia: noções básicas e climas do Brasil*. São Paulo: Oficina de Textos, 2007. 206 p.

MIES FILHO, A.. Tecnologia do sêmen I. In: Mies Filho, A. *Reprodução dos Animais Domésticos e Inseminação Artificial*. 5ª ed. Porto Alegre: Sulina, v.2, p.435-495, 1986.

MIES FILHO, A. Fisiologia do aparelho genital masculino. In: _____. (Ed). *Reprodução dos Animais*. V.1, 6.ed. Porto Alegre: Editora Salina, 1987. p.98-132.

MOREIRA, E.P., MOURA, A.A.A., ARAÚJO, A.A.. Efeito da insulação escrotal sobre a biometria testicular e parâmetros seminais em carneiros da raça Santa Inês criados no estado do Ceará. *Rev Bras Zootec*, v.30, p.1704-1711, 2001.

MULLER, C.J.C.; BOTHA, J.A. Effect of summer climatic conditions on different heat tolerance indicators in primiparous Friesian and Jersey cows. *South African Journal of Animal Science*, v.23, p. 98-103, 1993.

NÄÄS, I de A.; MARCHETO, F. G.; SALGADO, D. D' A.; SOUZA, S. R. L de. Efeito das temperaturas de bulbo seco e globo negro e o índice de temperatura e umidade, em vacas em produção alojadas em sistema free-stall. *Brazilian Journal Veterinary Review Animal Science*., v. 39, n. 6, p. 320-323, 2002.

NASCIMENTO, E. F.; SANTOS, R. L., 2003. *Patologia da Reprodução dos Animais Domésticos*. 2. ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan. 137p.

NEILD, D.M.; FLORES, M.C.; AGUERRO, A. Espermatozoides equinos: inducción de la capacitación por efecto de la criopreservación. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.23, n.3, p.293-295, 1999.

NEIVA, J. N. M.; TEIXEIRA, M.; TURCO, S. H. N. Efeito do estresse climático sobre os parâmetros produtivos e fisiológicos de ovinos Santa Inês mantidos em confinamento na região litorânea do Nordeste do Brasil. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v. 33, n. 3, p. 668–678, 2004.

NIE, G.J.; WENZEL, J.G.W. Adaptation of the hypoosmotic swelling test to assess functional integrity of stallion spermatozoal plasma membranes. *Theriogenology*, v.55, p.1005-1018, 2001.

NUNES, J.F. Utilização da água de côco como diluidor do sêmen de animais domésticos e do homem. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.22, n.2, p.109- 112, 1998.

OBERST, E.R.; JOBIM, M.I.M.; MATTOS, R.C.; KROTH, E.; LARA, G.; SMIDERIE, W.; BRONZATTO, M. Teste hiposmótico e sua relação com outros métodos da avaliação da integridade da membrana espermática do carneiro. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.27, n.3, p.375-376, 2003.

PAIVA, S.R. Caracterização da diversidade genética de ovinos no Brasil com quatro técnicas moleculares. 2005. 216f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

PINTO, M.E., DE-ALENCAR-ARARIPE, M.A., DE-ARAUJO-AIRTON-ALENCAR, Effects of scrotal insulation on testis size and semen criteria in Santa Ines hairy sheep raised in the State of Ceara, Northeast of Brazil. **Rev. Brasileira Zootec.**, v. 30, n.6, p. 1704-1711. 2001.

PHILLIPS, B.W. La cria del Ganado en ambientes desfavorables. Roma: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1955.

QUESADA, M.; McMANUS, C.; COUTO, F.A.d'A. Tolerância ao calor de duas raças de ovinos deslanados no distrito federal. *Rev. Bras. Zootec.*, 30 (3):1021-1026, 2001(Suplemento 1).

RODRIGUES, B.A.; RODRIGUES, J.L. Efeito da adição de diferentes concentrações de albumina sérica bovina (BSA) ao diluidor à base de tris sobre a viabilidade in vitro do sêmen canino criopreservado. **Arquivo da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v.26, n.2, p.32-49, 1998.

SANTOS, M. M. dos. et al. Comportamento de ovinos da raça Santa Inês, de diferentes pelagens, em pastejo. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, v.33, p.287-294, 2011.

SENGER, P.L. Endocrinology of the male and spermatogenesis. In: _____, (Ed). *Pathways to Pregnancy and Parturition*. 2.ed. Washington: Current Conceptions Inc., 2003. p.214-239.

SILVA, R. G. Estimação do balanço térmico por radiação em vacas Holandesas ao sol e à sombra, em ambiente tropical. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BIOMETEOROLOGIA, II, 1998. Goiânia – GO. Anais. Goiânia: Universidade Católica de Goiás, 1998, p.118 – 128.

SILVA, G.A. Efeito de fatores extrínsecos sobre parâmetros fisiológicos de caprinos no semiárido paraibano. Patos - PB: CSTR/UFCG, 2005. 74f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária em pequenos ruminantes).

SILVA, R. G.; STARLING, J. M. C. Evaporação cutânea e respiratória em ovinos sob altas temperaturas ambientes. Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, MG, v. 32, n. 6, p. 1956-1961, 2003.

SILANIKOVE, N. Effects of water scarcity and hot environment on appetite and digestion in ruminants: a review. Livest. Prod. Sci., v.30, p.175-194, 1992.

SILANIKOVE, N. Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. Livestock Production Science, [S.l.], v. 67, p. 1-18, 2000.

SWENSON, M. J. & REECE, W. O. *Dukes – Fisiologia dos Animais domésticos*. 11ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 856 p. 1996.

Silva AEDF, Nunes JF. Estacionalidade na atividade sexual e qualidade do sêmen nos ovinos deslanados das raças Santa Inês e Somalis. Rev Bras Reprod Anim, v.8, p.207-214, 1984.

SILVA, A.E.D.F.; NUNES, J.F. Estacionalidade na atividade sexual e qualidade do sêmen nos ovinos deslanados das raças Santa Inês e Somalis brasileira. Sobral: EMBRAPA-CNPC, 14p. (EMBRAPA-CNPC. Boletim de pesquisa, n8), 1987.

SOUSA, J.A.T.; COSTA, F.A.L. Características do sêmen de ovinos deslanados e correlações com outros parâmetros reprodutivos. In: Simpósio em ciências agrárias, Teresina. Anais. Teresina: Centro de Ciências Agrárias, UFPI, p.80-86, 1992.

TAYLOR, R.E.; BOGART, R. **Scientific Farm Animal Production**. Macmillan Publishing Company, New York, USA.. 1988.

TERRILL, C. E.; SLEE, J. Breed differences in adaptation of sheep. In: MAIJALA, K. Genetic resources of pigs, sheep and goat. Amsterdam: Elsevier, 1991. p. 195-233.

TUTIDA, L.; BARBOSA, O.R.; MARTINS, E.N. et al. Influência das estações do ano na temperatura retal e frequência respiratória de carneiros. Rev. Bras. Zootec., v.28, n.5, p.1113-1140, 1999.

URIBE-VELÁSQUEZ, L.F.; OBA, E. ; BRASIL, L.H.A. et al. Efeitos do estresse térmico nas concentrações plasmáticas de progesterona (P4) e estradiol 17-b (E2) e temperatura retal em cabras da raça Pardo Alpina. *Rev. Bras. Zootec.*, 30 (2): 388-393, 2001.

VAN DEMARK, N.L.; FREE, M.J. Temperature effects. IN: JOHNSON, A. D. GOMES, W.R. *The testis*. 1ª edição, New York: Academic Press, V. 3, p. 233-312, 1970.

VAZQUEZ, J.M.; MARTINEZ, E.A.; GARCIA-ARTIGA, C.; ROCA, J. Hypoosmotic swelling of boar spermatozoa compared to other methods for analysing the sperm membrane. *Theriogenology*, v.47, p.913-922, 1997.

VOGLER, C.J.; SAACKE, R. G.; BAME, J.H. Effects of scrotal insulation on viability characteristics of cryopreserved bovine semen. *J. Dairy Sci.*, v.74, p.3827-3835, 1991.

WAITES, G.M.H. Temperature regulation and the testis. In: JOHNSON, A.D., GOMES, W.R.; VANDERMARK, N.L. (Eds.) **The testis**. New York: Academic Press. p.241-279, 1970.

KASTELIC, J.P.; COOK, R.B.; COULTER, G.H. Insulating the scrotal neck affects semen quality and scrotal/ testicular temperatures in the bull. **Theriogenology**, v.45, p.935-941, 1995a.

KASTELIC, J.P.; COULTER, G.H.; COOK, R.B. Scrotal surface, subcutaneous, intratesticular. And intraepididymal temperatures in bulls. **Theriogenology**, v.44, p. 147- 152, 1995b.

COOK, R.B.; COULTER, G.H.; KASTELIC, J.P. The testicular vascular cone, scrotal thermoregulation, and their relationship to sperm production and seminal quality in beef bulls. **Theriogenology**, v.41, p.653-671, 1994.

SETCHELL, B. P. The parkers lecture - heat and the testis. **J. Reprod. Fertil.**, v.114, p. 179-194, 1998.

SOUZA, B.B.; SOUZA, E.D.; SILVA, R.M.N.; CEZAR, M.F.; SANTOS, J.R.S.; SILVA, G.A. Respostas fisiológicas de caprinos de diferentes grupos genéticos no semiárido paraibano. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v.32, n.1, p.314-320, 2008.