

## FERTILIDADE EM GARANHÕES AVALIADA ATRAVÉS DO EXAME ANDROLÓGICO<sup>1</sup>

### FERTILITY IN STALLIONS AS ACCESSED BY THE BREEDING SOUNDNESS EXAMINATION

Anelise Maria Hammes<sup>2</sup> Cláudio Alves Pimentel<sup>3</sup> Carlos Eurico Fernandes<sup>4</sup>

#### RESUMO

O presente trabalho teve por objetivo discutir aspectos da fertilidade de garanhões e sua relação com o exame andrológico. Numa primeira análise, 10 garanhões usados em monta natural exclusivamente, tiveram seus índices reprodutivos relacionados a qualidade do seu sêmen. Num segundo grupo, foram considerados 14 garanhões cujos acasalamentos eram, alternadamente, inseminação artificial e/ou monta natural. No terceiro estudo, foram relacionados garanhões específicos, pertencentes aos dois grupos anteriores, sabidamente subfêrteis em que os índices de fertilidade foram relacionados a características do sêmen ou manejo. Quando os garanhões são submetidos a monta natural dentro de um programa de manejo racional existe uma significativa relação entre qualidade de sêmen e fertilidade ( $P < 0,01$ ). O mesmo não se verifica quando há interferência de manejo (homem), usando inseminação artificial e modificando condições naturais (inseminação artificial inadequadamente empregada reduzindo a fertilidade e adequadamente empregada, melhorando a fertilidade de garanhões subfêrteis). A análise de exames andrológicos individuais evidencia fatores intrínsecos e extrínsecos (manejo) afetando a fertilidade.

**Palavras-chave:** garanhão, sêmen, fertilidade.

#### SUMMARY

This paper discuss certain aspects of the fertility in stallions and its relationship to the Breeding Soundness Examination. In a first analysis, 10 stallions that were bred only

naturally had their reproductive standards correlated to the semen quality. In a second step, we consider 14 stallions that were bred either by artificial insemination and/or naturally. In a third study, certain subfertile stallions, belonging to the previous two groups, had their fertility standards correlated to semen quality and management procedures. A significant association ( $P < 0.01$ ) was observed between semen quality (sperm morphology) and fertility, when stallions were bred naturally under appropriate management procedures. This relationship was not observed when artificial insemination was included in the management, because it can improve the fertility of subfertile stallions or be detrimental to normal stallions when misused. The individual analysis of the subfertile stallions allowed to determine if the cause the infertility can be from intrinsic or extrinsic (management) factors.

**Key words:** stallion, semen, fertility.

#### INTRODUÇÃO

Os meios semiológicos em Fisiopatologia da Reprodução buscam, basicamente, maximizar a fertilidade, eliminar animais infêrteis e, possivelmente, selecionar indivíduos mais férteis. Tendo a fertilidade como meta, deve-se levar em conta a fêmea, o macho e o meio ambiente (este tendo o homem como seu principal modificador). Neste trabalho serão discutidos

<sup>1</sup>Trabalho financiado em parte pelo CNPq.

<sup>2</sup>Médico Veterinário, Professor Assistente, Departamento de Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Pelotas. 96010-900 - Pelotas, RS. Autor para correspondência.

<sup>3</sup>Médico Veterinário, Professor Titular, Departamento de Patologia Animal - Faculdade de Veterinária, UFPEL.

<sup>4</sup>Médico Veterinário autônomo.

alguns aspectos relativos ao macho como fatores capazes de modificar a fertilidade.

O exame andrológico consiste numa maneira indireta de se estimar a fertilidade potencial de um garanhão. As causas de infertilidade do macho podem ser devidas à sua capacidade copuladora, a agentes patógenos ou a problemas no sêmen. Problemas de comportamento sexual devem ser criteriosamente analisados por interferirem diretamente na fertilidade (MCDONNELL *et al.*, 1987), assim como doenças venéreas que devem ser controladas por medidas higiênicas apropriadas (BOWEN *et al.*, 1982). Com relação ao exame de sêmen, o que se objetiva é apreciar indiretamente a produção qualitativa e quantitativa de gametas (AMANN, 1991), bem como as suas condições de armazenamento e transporte no trato genital masculino (KENNEY *et al.*, 1983). Há circunstâncias em que a qualidade do sêmen do garanhão utilizado modifica completamente a expectativa de fertilidade de éguas com diferentes graus de comprometimento endometrial. A eficiência reprodutiva de éguas acasaladas com garanhões com problemas de espermatogênese vai estar reduzida. Há casos de éguas com lesões endometriais graves que, por terem sido acasaladas com garanhões de sêmen de excelente qualidade, têm melhores chances de concepção do que outras com endométrio normal porém acasaladas com garanhões subférteis (PIMENTEL *et al.*, 1991).

A importância da morfologia espermática na fertilidade de garanhões tem sido muito questionada (VOSS *et al.*, 1981; DOWSETT & PATTIE, 1982). Há, porém, evidências de que, quando as observações são conduzidas dentro de critérios laboratoriais rígidos e o manejo reprodutivo bem orientado, pode-se constatar um efeito significativo (PIMENTEL *et al.*, 1989; JASKO *et al.*, 1990). O presente trabalho teve por objetivo discutir aspectos da fertilidade de garanhões, em função de seu manejo reprodutivo e sua relação com o exame andrológico

## MATERIAIS E MÉTODOS

No presente trabalho, foram considerados 24 garanhões, das raças P.S.I. (Puro Sangue Inglês), Quarto de Milha e Árabe, com idade variando entre 5 e 17 anos, cujos índices de fertilidade eram conhecidos. Numa primeira análise, 10 garanhões usados em monta natural exclusivamente, tiveram seus índices reprodutivos (Serviços por Prenhez [SP] e

Taxa de Prenhez [TP]) relacionados à qualidade do seu sêmen, mais especificamente à morfologia espermática (PIMENTEL *et al.*, 1989). Foram consideradas 236 éguas, com idade entre 4 e 17 anos, assim distribuídas: 63,7% lactantes, 24,6% falhadas e 11,7% virgens.

Num segundo grupo, foram considerados 14 garanhões cujos acasalamentos eram, alternadamente, inseminação artificial e/ou monta natural dependendo do número de éguas a serem servidas num determinado dia. Todas as éguas (N=437), independentemente de grupo, foram submetidas a controle folicular para determinar o melhor momento da cobertura (proximidade da ovulação). A inseminação foi feita com sêmen fresco, as vezes diluído com glicose a 5% e outras vezes usado puro, simplesmente repartindo-o de acordo com o número de éguas a inseminar, sem levar em conta volume e número de espermatozóides por égua (critério este estabelecido pelo veterinário residente).

No terceiro grupo, foram relacionados garanhões, pertencentes aos dois grupos anteriormente citados, sabidamente subférteis (DOWSETT & PATTIE, 1982; DOWSETT *et al.*, 1984) em que os índices de fertilidade foram relacionados a características do sêmen ou manejo. Os exames andrológicos foram realizados em diferentes datas, durante a estação reprodutiva (pelo menos 2 exames de cada garanhão, utilizando-se posteriormente sua média), segundo a ficha modelo representada na Figura 1 e a morfologia espermática examinada em esfregaço corado por eosina a 5%. Eram contadas 200 células e estabelecidas as percentagens de espermatozóides normais e com defeitos (PIMENTEL *et al.*, 1989). Mortalidade embrionária foi considerada quando as éguas servidas por um determinado garanhão apresentavam-se prenhas, através da palpação retal, e, num segundo exame, estavam vazias. Considerando-se o critério de mortalidade embrionária desta maneira, podem ter havido casos de aborto (mortalidade fetal após 45 dias de gestação) incluídos nessa categoria. Os dados foram submetidos a análise de regressão (STEEL & TORRIE, 1960), sendo a fertilidade (taxa de prenhez [TP] e serviços por prenhez [SP]) as variáveis dependentes e a percentagem de espermatozóides morfolologicamente normais (NOR) a variável independente. Para testar a normalidade dos dados foi realizado o WILK-SHAPIRO/RANKIT TEST (SHAPIRO & FRANCA, 1972). Não houve necessidade de transformar as observações, já que houve homogeneidade de variâncias, critério fundamental para a realização da análise de regressão (STEEL & TORRIE, 1960).

<b>Exame Andrológico</b>			
Identificação:		Local:	
Pelagem:		Raça:	Idade:
Proprietário:	Endereço:	Fone:	
Veterinário:	Endereço:	Fone:	
<b>Histórico</b>			
<b>Exame Clínico</b>			
Estado Geral:			
Dentes:			
Aprumos e membros:			
Testículos:			
Diâmetro Testicular:			
Epidídimo:			
Penis:			
Órgãos Internos:			
Comportamento Sexual:			
Observações:			
<b>Exame de Sêmen</b>			
Volume Total (ml)			
Gel (ml)			
Sem Gel (ml)			
pH			
Motilidade (%)			
Vigor (0-5)			
Concentração ( $\times 10^6/ml$ )			
Total Ejaculado ( $\times 10^9$ )			
Total Viáveis ( $\times 10^9$ )			
Total Viáveis Corrigidos ( $\times 10^9$ )			
Morfologia (%)			
1. Normais			
2. Anormalidades de Cabeça			
3. Anormalidades de Peça Intermediária			
4. Anormalidades de Cauda			
5. Anormalidades de Acrossomo			
6. Gota Proximal			
7. Cabeça isolada Normal			
8. Células Germinativas			
Assinatura Vet.	Local	Data:	

Figura 1. Modelo de ficha de exame andrológico para garanhões usada neste trabalho.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Existe uma clara associação entre qualidade do sêmen (morfologia espermática) e fertilidade em garanhões quando acasalados em monta natural com éguas de uma população normal (Tabela 1), isto é, sem elevado número de éguas inférteis e velhas (BALL *et al.*, 1989) e sem uso de técnicas capazes de modificar a fertilidade intrínseca do garanhão (inseminação artificial). A Tabela 1 mostra casos de garanhões usados em monta natural, evidenciando uma nítida associação entre NOR e TP ( $TP = 39,986 + 0,5876 \times NOR$   $P=0,0086$ ), bem como entre NOR e SP ( $SP = 5,8 - 0,042 \times NOR$   $P=0,0025$ ).

Tabela 1. Índices reprodutivos (Taxa de Prenhez =TP e Serviços por Prenhez=SP) em função da percentagem de espermatozoides morfologicamente normais (NOR) no ejaculado de garanhões usados em monta natural.

Garanhão	NOR(%)	N	TP(%)	SP
1	(40)	42	(66,7)	4,1
2	(68)	40	(82,5)	3,1
3	(82)	8	(87,5)	2,1
4	(61)	39	(79,5)	3,7
5	(71)	24	(83,3)	2,1
6*	(21)	8	(0,0)	-
7	(84)	25	(76,0)	2,1
8	(83)	9	(100)	2,7
9	(38)	24	(45,8)	5,0
10	(28)	17	(64,7)	3,9
Média	(61,7)	236	(64,2)	3,2

\* Não incluído nas análises estatísticas (N=9)

$TP = 39,986 + 0,5876(NOR)$

$P = 0,0086$

$R^2 = 65,04\%$

$SP = 5,8 - 0,042(NOR)$

$P = 0,0025$

$R^2 = 75,18\%$

Há também certos fatores de confundimento que afetam as análises, não permitindo que se verifiquem efeitos reais. Como exemplo, podemos citar casos de garanhões servindo éguas velhas e com problemas reprodutivos (BALL *et al.*, 1989), o que não foi o caso do presente trabalho, já que na distribuição de éguas por categoria, houve uma

predominância de lactantes e virgens sobre as falhadas (24,6%). Outra circunstância em que os resultados podem ficar viciados é quando se faz uso da inseminação artificial, sem um controle das condições do ejaculado (PICKETT, 1994) para que esse possa ser devidamente fracionado (número mínimo de espermatozoides viáveis/égua). Há evidências, na espécie eqüina, que o uso de inseminação artificial é capaz de elevar a fertilidade de garanhões subfêrteis (HUGHES & LOY, 1970), determinando um melhor aproveitamento dos espermatozoides ejaculados através de sua deposição total no útero, além de um efeito nutriente e protetor do choque térmico pela adição de diluidores (BRINSKO & VARNER, 1992). Também as éguas velhas e subfêrteis tem suas chances de concepção aumentadas (KENNEY *et al.*, 1975) pelo uso desses diluidores (diminuindo a concentração de contaminantes no sêmen depositado por via intra-uterina e antibiótico evitando proliferação de microorganismos). A Tabela 2 mostra que o uso da inseminação artificial modifica a fertilidade intrínseca

Tabela 2. Índices reprodutivos (Taxa de Prenhez =TP e Serviços por Prenhez=SP) em função da percentagem de espermatozoides morfologicamente normais (NOR) no ejaculado de garanhões usados em inseminação artificial associada a monta natural.

Garanhão	NOR(%)	N	TP(%)	SP
11	(61)	26	(84,6)	4,5
12	(72)	47	(89,4)	2,7
13	(75)	14	(85,7)	4,0
14	(64)	23	(78,3)	3,9
15	(62)	68	(72,1)	5,2
16	(81)	40	(90,0)	4,3
17	(66)	35	(88,6)	4,4
18	(72)	39	(96,7)	4,4
19	(84)	40	(85,1)	3,8
20	(26)	25	(92,0)	4,6
21	(54)	26	(92,3)	3,4
22	(53)	53	(88,7)	3,4
23	(25)	30	(40,0)	3,7
24*	(73)	18	(0,0)	0
Total	(61,1)	457	(74,6)	3,6

\* Não incluído nas análises estatísticas (N=13)

TP - (NOR)

$P = 0,0086$

$R^2 = 24,35\%$

SP - (NOR)

$P = 0,08758$

$R^2 = 0,23\%$

de garanhões, gerando dados (viciados) que não mostram uma associação entre a qualidade do sêmen e índices de fertilidade. A adição de diluidores pode melhorar a motilidade e longevidade do ejaculado de garanhões subfêrteis (BRINSKO & VARNER, 1992), bem como quando usada inadequadamente (Tabela 3, garanhão 15), comprometer a credibilidade da técnica através de danos as células espermáticas ou diluindo excessivamente a dose inseminante. Não se verificou associação entre NOR e TP ( $P=0,0866$  e  $R^2=24,35\%$ ) nem entre NOR e SP ( $P=0,8758$  e  $R^2=0,23\%$ ), pois a inseminação artificial foi utilizada sem que fossem observados seus requisitos básicos (KENNEY *et al.*, 1983).

Defeitos específicos no ejaculado, quando em proporções elevadas, comprometem a fertilidade (HURTGEM, 1992). Na Tabela 3 estão os espermogramas de alguns garanhões cujos índices de fertilidade estiveram abaixo do mínimo considerado aceitável (Serviços por Prenhez [SP]=3,8 e Taxa de Prenhez [TP]=80, para garanhões "normais", segundo DOWSETT & PATTIE (1982).

intensivamente em inseminação artificial e, embora com um adequado controle folicular, a quantidade de espermatozoides viáveis por ejaculado era insuficiente para um fracionamento (grande número de éguas, num período restrito). Esse garanhão cobriu 68 éguas, praticamente nos meses de julho, agosto e setembro, chegando por vezes seu sêmen ser fracionado entre 15 éguas (período este do ano em que a produção de espermatozoides é bem reduzida (VOSS *et al.* 1981; PICKET, 1994). Como apresentava apenas  $710 \times 10^6$ , seu ejaculado não poderia ser usado em mais de 2 éguas (KENNEY *et al.*, 1975). Pode-se observar na Tabela 3 que, apesar do uso de inseminação artificial, o seu índice SP (serviços/prenhez) foi bastante alto (5,2). Desses dados pode-se concluir que para se maximizar eficientemente o uso de um garanhão em I.A. deve-se considerar o número de espermatozoides viáveis no ejaculado.

O garanhão N° 9 apresentava uma baixa motilidade e uma alta frequência de espermatozoides com gota citoplasmática proximal. Apesar de ter no ejaculado números considerados suficientes para uma

boa fertilidade, seus índices reprodutivos foram baixos (Tabela 2). A PP (percentagem de prenhez) foi de apenas 45,8%; SP (serviços/prenhez) foi 5,0. No entanto, o que mais chamou a atenção foi o elevado índice de mortalidade embrionária (ME = 45,5%). Esse garanhão foi, em outra ocasião, submetido à 3 coletas sucessivas com intervalos de 15 à 30min. A motilidade foi de 10, 20 e 30%, respectivamente, porém não houve uma mudança substancial na morfologia espermática. O diagnóstico foi de "Disfunção Epididimária" (GALLO-WAY, 1987), um problema semelhante ao que ocorre na espécie bovina (GUSTAFSSON, 1966), caracterizando-se por uma perda da viabilidade dos espermatozoides durante o seu armazenamento na cauda do epidídimo, por estarem em contato com um plasma de composição iônica e protéica alterados. Por orientação técnica, o referido garanhão

passou a cobrir, pelo menos, 2 vezes ao dia e sua motilidade chegou à 40% depois de 30 dias nesse manejo. Como resultado, sua taxa de concepção aumentou, porém o índice de ME chegou a 45,5%.

Tabela 3. Spermograma de alguns garanhões, pertencentes aos dois grupos anteriores (Tabelas 1 e 2) com problemas de fertilidade.

Características	Identificação					
	15*	9	10	6	23	24
Volume (ml)	30	50	-	50	45	150
Motilidade (%)	40	20	30	10	10	70
Concentração ( $\times 10^6/ml$ )	59,5	124	-	196	100	76
Total ejaculado ( $\times 10^9$ )	1,8	6,2	-	7,84	4,5	11,4
Total viáveis ( $\times 10^9$ )	0,71	1,24	-	0,784	0,45	7,98
Morfologia (%)						
• Normais	62	38	28	21	25	73
• anormalidades de cabeça	10	5	13	6	13	13
• anormalidades de peça intermediária	4	6	12	54	19	2
• anormalidades de cauda	11	3	15	12	8	4
• gota citoplasmática proximal	6	34	6	2	20	1
• gota citoplasmática distal	3	12	2	0	3	0
• cabeça isolada normal	3	2	13	2	11	4
• anormalidades de acrossomo	1	0	11	3	1	3
Índices						
• PP (percentagem de prenhez)	72	46	65	0	40	0
• SP (serviços por prenhez)	5,2	5	3,9	0	3,7	0
• ME (mortalidade embrionária - %)	-	45,8	54,5	-	35,5	-

\* inseminação artificial

O garanhão N° 15 apresentava características genéticas de grande interesse por parte dos corredores de reta, portanto, o manejo visava produtos nascidos precocemente na temporada hípica. Foi usado

O garanhão Nº 10 tinha 17 anos e um histórico de poucos filhos e fertilidade duvidosa. Não aceitava vagina artificial, portanto seu sêmen foi examinado a partir da gota pós-ejaculado, apenas quanto a morfologia. A percentagem de espermatozoides normais foi de 28%. Por esse motivo, somente 17 éguas foram destinadas a ele. Sua PP foi aceitável (64,7%), entretanto, o SP foi elevado (3,9). Porém o que mais chamou a atenção foi o alto índice de ME (54,5%). Conclui-se que uma importante causa de ME pode ser resultantes de zigotos oriundos de ovócitos fertilizados por espermatozoides com possível comprometimento em seu DNA e, conseqüentemente, incapazes de continuar seu desenvolvimento intra-uterino (HUNTER, 1990). O fator idade (MERKT *et al.*, 1979) associado a outros problemas prévios desconhecidos podem ter contribuído para sua sub-fertilidade (BLANCHARD & WARNER, 1993).

O garanhão Nº 6 foi submetido a exame andrológico por se apresentar estéril após seu acasalamento com 8 éguas, durante 12 ciclos e 39 serviços. Dessas 8 éguas, 4 foram, posteriormente, servidas por outro garanhão e todas conceberam no primeiro ciclo. O exame de sêmen revelou uma baixa motilidade (< de 10%) e uma elevada percentagem de espermatozoides com malformação de peça intermediária (apenas o rudimento da peça se formava). O diagnóstico foi de Espermiogênese Alterada (Mc ENTEE, 1980, comunicação pessoal).

O garanhão Nº 23 apresentando um sêmen de má qualidade teve uma baixa taxa de prenhez e elevado índice de mortalidade embrionária. Uma característica constante de seu espermograma era a elevada percentagem de gota citoplasmática proximal. A provável causa de sua má qualidade de sêmen pode ter sido uma discreta e crônica degeneração testicular, pois seu quadro espermático apresentava uma lenta progressiva deterioração, compatível com o quadro espermático de garanhões submetidos a degeneração testicular experimental (FRIEDMAN *et al.*, 1991). O garanhão era excessivamente gordo e era pouco submetido a exercícios: somente saía de sua cocheira para cobrir e retornava novamente. Fora da temporada de monta, saía muito pouco, conduzido pelo cabresto. Acredita-se que, se fosse melhor manejado, poderia ter seu quadro espermático melhorado.

O garanhão Nº 24 foi submetido a exame andrológico por estarem todas as éguas servidas retornando ao cio, vazias. O exame andrológico não revelou nenhum problema, porém as éguas, quando examinadas, apresentavam ovários afuncionais e com folículos anovulatórios, típicos de período transicional (NEELY *et al.*, 1983). Como o mês em que o garanhão cobriu foi agosto, era de se esperar uma baixa frequência de atividade ovariana (TAROUÇO *et al.*, 1994). Este caso evidencia a necessidade de se levar em conta as condições das éguas a serem postas com o ga-

ranhão, bem como a época do ano. Neste caso, a falta do controle folicular das éguas, fez com que a infertilidade no haras fosse atribuída ao garanhão.

## CONCLUSÕES

Técnicas de manejo reprodutivo como a inseminação artificial são capazes de elevar ou reduzir a fertilidade intrínseca de garanhões quando empregadas adequada ou inadequadamente.

A associação entre qualidade de sêmen e fertilidade se torna mais evidente quanto menor for a interferência introduzida pelo homem através de novas tecnologias e pode ser observada quando os garanhões foram usados apenas em monta natural.

O exame andrológico é uma importante ferramenta de que dispõe o médico veterinário para:

- a) interpretar problemas de infertilidade, permitindo determinar se são devidos a causas intrínsecas ou extrínsecas do garanhão;
- b) estabelecer programas de manejo visando máxima eficiência reprodutiva;
- c) contornar certos problemas de sub-fertilidade por hipospermatogênese, e
- d) orientar programas terapêuticos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMANN, RP. Can the fertility potential of a seminal sample be predicted accurately? *J Androl*, v. 10, p. 89-98. 1991.
- BALL, B.A., LITTLE, T.V., WEBER, J.A., WOODS, G.L.. Survival of day-4 embryos from young, normal mares and aged subfertile mares after transfer to normal recipient mares. *J Reprod Fert*, v. 85, p. 187-194. 1989.
- BLANCHARD, T.L., VARNER, D.D. Testicular degeneration. In: McKinnon, A.O., Voss, J.L. *Equine reproduction*. Philadelphia: Lea, Febiger. 1993. p. 855-860.
- BOWEN, J.M., TOBIN, N., SIMPSON, R.B., *et al.* Effects of washing on the bacterial flora of the stallion's penis. *J Reprod Fert, Suppl* 32, p. 41-45. 1982.
- BRINSKO, S.P., VARNER, D.D. Artificial insemination and Preservation of Semen. In: Blanchard, T.L., Varner, D.D. *Stallion Management*. The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1992. v. 8, p. 205-218.
- DRAPER, N.R., SMITH, H. *Applied Regression Analysis*. Wiley, New York. 1966. 326 p.
- DOWSETT, K.F., OSBORNE, H.G., PATTIE, W.A.. Morphological characteristics of stallion spermatozoa. *Theriogenology*, v. 22, p. 463-472. 1984.
- DOWSETT, K.F., PATTIE, W.A.. Characteristics and fertility of stallion semen. *J Reprod Fert, Suppl* v. 32, p. 1-8. 1982.

- FRIEDMAN, R., SCOTT, M., HEATH, S.E., *et al.* The effects of increased testicular temperature on spermatogenesis in the stallion. **J Reprod Fertil Suppl.** 44, p. 127-134. 1991.
- GALLOWAY, D.B. An infertility syndrome in stallions associated with low sperm motility. **J. Reprod Fertil Suppl** 35, p. 655-656. 1987.
- GUSTAFSSON, B. Luminal contents of the bovine epididymis under conditions of reduced spermatogenesis, luminal blockage and certain sperm abnormalities. **Acta Vet Scand, suppl** 17, 80 p. 1966.
- HUGHES, J.P., LOY, R.G. Artificial insemination in the equine. A comparison of natural breeding and artificial insemination of mares using semen from six stallions. **Cornell Vet**, v. 60, p. 463-475, 1970.
- HUNTER, R.H.F. Gamete lifespans in the mare's genital tract. **Equine Vet J**, v. 22, p. 378-379. 1990.
- HURTGEN, J.P. Evaluation of the Stallion for Breeding Soundness. In: Blanchard, T.L., Varner, D.D. **Stallion Management**. The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1992. v. 8, p. 149-165.
- JASKO, D.J., LEIN, D.H., FOOTE, R.H. Determination of the relationship between sperm morphologic classifications and fertility in stallions: 66 cases (1987-1988). **J Am Vet Med Assoc**, v. 197, p. 389-394. 1990.
- KENNEY, R.M., BERGMAN, R.V., COOPER, W.L., *et al.* Minimal contamination techniques for breeding Mares: Technique and preliminary findings. **Proc Am Ass Equine Pract**, p. 327-336. 1975.
- KENNEY, R.M., HURTGEN J.P., PERSON R. *et al.* Society for Theriogenology: **Manual for Clinical Fertility Evaluation of the Stallion**. Hastings, Nebraska 1983;100
- MCDONNELL, S.M., GARCIA, M.C., KENNEY, R.M. Pharmacological manipulation of sexual behavior in stallions. **J Reprod Fert, Suppl** 35, p. 45-49. 1987.
- MERKT, H., JACOBS, K.-O., KLUG, E., *et al.* An analysis of stallion fertility rates (foals born alive) from the breeding documents of the Landgestüt Celle over a 158 year period. **J Reprod Fert, Suppl** 27, p. 73-77. 1979.
- NEELY, D.P., LIU, I.K.M., HILLMAN, R.B. **Equine Reproduction**. New Jersey: Hoffmann-La Roche Inc. 1983. 90 p.
- PICKETT, B.W. Factors affecting sperm production and output. **ARS Veterinária**, v. 10, p. 1-15. 1994.
- PIMENTEL, C.A., DIEDRICH, G., OLIVEIRA, L.M.S. Fertilidade do garanhão em função da morfologia espermática. **Rev Bras Reprod Anim, Supl.1**, p. 229. 1989.
- PIMENTEL, C.A., FERNANDES, C., RUAS, J., *et al.* Aspectos clínicos das alterações genitais e da biópsia endometrial. **Anais da AGVEQ - Porto Alegre**. 1991. (Impresso não paginado).
- SHAPIRO, S.S., FRANCA, R.S. An approximate analysis of variance test for normality. **J Am Stat Assoc**, v. 67, p. 215-216. 1972.
- STEEL, R.D.G., TORRIE, J.H. **Principles and Procedures of Statistics**. New York: McGraw-Hill Book Company, Inc., 1960. 481 p.
- TAROUCO, A.K., HAMMES, A.M., PIMENTEL, C.A. Estacionalidade reprodutiva de éguas abatidas em Pelotas - RS. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS, Porto Alegre**, v. 23, p. 22-36, 1994.
- VOSS, J.L., PICKETT, B.W., SQUIRES, E.L. Stallion spermatozoal morphology and motility and their relationship to fertility. **J Am Vet Med Assoc**, v. 178, p. 287-289. 1981.