



Influência da sazonalidade sobre a composição e a qualidade seminal de garanhões

Influence of seasonality over stallion's seminal composition and quality

**João Gabriel da Silva Neves¹, José Domingos Guimarães, Bruna Waddington de Freitas,
Lincoln Silva Amorim**

Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

¹Correspondência: joaogabrielneves@yahoo.com.br

Resumo

As variações sazonais traduzidas em mudanças de temperatura, umidade e luminosidade afetam diretamente a composição do plasma seminal dos equinos. Essa alteração na composição plasmática leva a diferenças da qualidade espermática desses animais por causar mudanças nos padrões protéicos, lipídicos e hormonais. O estudo dessas variações é importante para que se possa otimizar o uso dos garanhões ao longo do ano. Nesta revisão de literatura, serão apresentados os principais aspectos seminais alterados pelas variações sazonais e de que forma tais aspectos podem ser avaliados.

Palavras-chave: equino, sazonalidade, sêmen.

Abstract

The seasonal variation represented in temperature changes, humidity and luminosity directly affects the composition of equine seminal plasma. This alteration in plasma composition leads to differences on sperm quality of these animals due to its changes in the proteic, lipidic and hormonal patterns. The study of these variations is important to optimize the use of stallions along the year. In this review, it will be presented the major seminal aspects changed by seasonal variations and how these aspects can be evaluated.

Keywords: equine, seasonality, semen.

Introdução

Os equinos são animais poliestrais sazonais, sendo que a atividade reprodutiva é primariamente regulada pelo fotoperíodo (Dael e Hughes, 1993). Fora da estação ocorre diminuição do peso testicular dos garanhões, com conseqüente diminuição da produção de espermatozoides, que variam de 20% nos animais jovens (4 a 5 anos) e 50% nos adultos (6 a 12 anos; Johnson e Thompson, 1983).

As diferenças circanuais afetam a composição e o conteúdo hormonal do plasma seminal (Hoffmann e Landeck, 1999), e alguns fatores presentes no plasma seminal interagem com a superfície dos espermatozoides, modificando as características de sua membrana. Um desses componentes são as proteínas. Esses polipeptídeos do plasma seminal são originários do epidídimo e das glândulas acessórias. Estão envolvidos no remodelamento da superfície espermática que ocorre durante o trânsito desses gametas pelos órgãos genitais masculinos e continuam após a ejaculação. As proteínas do plasma seminal têm sido apresentadas como responsáveis por algumas etapas do processo de fertilização, como o estabelecimento das reservas espermáticas na tuba uterina, a modulação da capacitação e a interação entre gametas (Topfer-Petersen et al., 2005).

Dessa forma, a detecção de fatores protéicos do plasma seminal que possam ser empregados como marcadores bioquímicos poderiam ser usados como critério para a predição da fertilidade em machos (Fraser et al., 2006).

Ambiente térmico

O bem-estar, o desempenho produtivo e a saúde dos animais são influenciados pelas condições meteorológicas. As altas temperaturas do ar, principalmente quando associadas a altas umidades relativas e radiação solar global intensa, são causas de redução na produtividade (Oliveira et al., 2008). A temperatura e umidade do ar, a radiação e o vento, são os elementos climáticos que mais afetam a temperatura corporal dos animais, podendo exercer efeitos marcantes sobre o seu bem-estar, com conseqüências no desempenho produtivo (Baêta e Souza, 1997).

Segundo Miller et al. (1990), para a maioria dos animais domésticos, a temperatura corporal aumenta acima do nível normal em resposta à elevação da temperatura ambiente, sendo esta resposta dependente do tempo de exposição, da adaptação ao calor e do nível de produção do animal. De acordo com Amann (1993), o testículo dos garanhões deve estar sempre com a temperatura abaixo da temperatura corporal para que haja uma normal espermatogênese. Baseando-se no estudo com outras espécies, o autor relatou que se a temperatura intratesticular se igualar à temperatura corpórea por um longo intervalo ou chegar a 40,5°C por até 2 h, algumas

células germinativas degeneram e morrem. Os espermatozoides primários são especialmente sensíveis ao calor, porém as espermatogônias B e as espermátides arredondadas também podem ser afetadas pelo aumento da temperatura. Conseqüentemente, poderá ser observado um declínio transitório na quantidade de espermatozoides no ejaculado cerca de sessenta dias após ter ocorrido o estresse térmico, uma vez que esta é a duração média da espermatogênese equina.

Avaliação da qualidade seminal

Estudos demonstram que a motilidade espermática dos equídeos não tem sofrido efeito significativo no decorrer das estações bioclimáticas (Pickett et al., 1976; Morais, 1990; Wrench et al., 2010). Entretanto, Morte et al. (2008) verificaram ocorrer diferença entre os parâmetros quantitativos (concentração espermática, motilidade espermática progressiva, vigor espermático, morfologia espermática e integridade acrossomal) dos animais considerados férteis em relação aos subférteis. Esses autores observaram que a produção espermática foi maior durante a estação de monta em ambos os grupos, embora a qualidade seminal de garanhões subférteis tenha reduzido nessa época. Por outro lado Wrench et al. (2010) demonstraram, em estudo semelhante, que não houve diferença entre os mesmos parâmetros, entre as diferentes estações.

Há uma série de parâmetros espermáticos que são utilizados para qualificar os espermatozoides, como motilidade progressiva, número total de espermatozoides, vigor espermático e morfologia espermática, de modo que a taxa de espermatozoides morfologicamente normais correlaciona-se positivamente com a taxa de fertilidade (Pickett et al., 1989; Jasko et al., 1990; Morrell et al., 2008).

Sazonalidade

Os equinos restringem seu potencial reprodutivo a certo período de forma a assegurar que sua cria nasça no período do ano em que as temperaturas e a disponibilidade de alimento são mais favoráveis (Gerlach e Aurich, 2000; Reiter et al., 2009). A mudança no comprimento do dia causada pela mudança de estação bioclimática é a maior responsável pelo ritmo circanual da atividade reprodutiva, apesar de não ser o único fator atuante (Chemineau et al., 2007). O equino é uma espécie sazonal poliéstral, com sua estação de monta natural ocorrendo de abril a setembro, no hemisfério Norte (Nagy et al., 2000) e de outubro a abril, no hemisfério Sul (Ginther, 1992). Por essa razão, mudanças no comprimento do dia ao longo do ano influenciam sua atividade gonadal (Janett et al., 2003).

A resposta às mudanças anuais no comprimento do dia requer um complexo ajuste de mecanismos para detectar três tipos de mudanças: primeiro, a detecção da presença de melatonina acima de um limiar mínimo (noite x dia); segundo, a detecção da duração da presença da melatonina acima desse limiar mínimo (dias longos x curtos); e finalmente, a detecção de mudanças na duração da presença de melatonina relativa à exposição anterior da mesma (aumento x diminuição do comprimento do dia). Ou seja, embora a principal característica do ritmo de secreção da melatonina pareça ser a sua duração (tempo com concentrações elevadas), essa interpretação depende do histórico “fotoperiódico” e “melatonínico” do animal. A direção da mudança parece ser mais importante do que a duração absoluta do fotoperíodo para determinar a resposta fisiológica (Malpaux et al., 2001).

Nos mamíferos, o fotoperíodo é percebido pelos olhos através da retina, que transmitem o sinal fótico via sináptica para a glândula pineal (Chemineau et al., 2007) a partir de uma projeção de fibras nervosas denominada trato retino-hipotalâmico - TRH (Malpaux, 2006), demonstrado em equinos por Sharp et al. (1984). Por meio do TRH, a retina comunica-se com os núcleos supraquiasmáticos que por sua vez conectam-se com a coluna intermediolateral da medula espinhal. A partir desta, a informação fótica chega à pineal por meio de nervos simpáticos (Sousa et al., 2008) que a traduz em sinal químico com a síntese e secreção de melatonina.

A secreção da melatonina aumenta com o início de uma fase escura e diminui rapidamente ao final da mesma - como se trata de uma molécula lipofílica, ela não fica estocada nos pinealócitos, sendo liberada para o espaço intersticial imediatamente (Malpaux, 2006). Durante as horas de escuro, a secreção de melatonina é estimulada pela norepinefrina, secretada por neurônios pós-ganglionares do gânglio cervical superior (Nagy et al., 2000). Em equinos, este conceito é suportado pela observação de que o isoproterenol, um agonista alfa-adrenérgico, estimula a secreção de melatonina (Sharp et al., 1980).

Em garanhões, a função endócrina e conseqüentemente a testicular são influenciadas pela estação do ano (Hoffmann e Landeck, 1999). Ao estudarem o efeito da administração de melatonina exógena em garanhões, Argo et al. (1991) observaram que as concentrações plasmáticas de testosterona diminuíram após 11 dias do início do tratamento.

A influência do fotoperíodo na secreção de GnRH é refletida pelas mudanças circanuais na liberação de LH. Nos “reprodutores sazonais de dias longos”, a secreção de LH aumenta durante a primavera e diminui no outono (Gerlach e Aurich, 2000). Em garanhões, a liberação de LH é correlacionada positivamente com o comprimento do dia, de forma que suas concentrações plasmáticas são maiores durante a estação de monta, conforme observado por Johnson e Thompson (1983), o que é fundamental para o restabelecimento da função testicular normal de animais adultos (Stanbenfeld e Edqvist, 1993). Quanto ao FSH, sua concentração plasmática



média em garanhões parece ser relativamente constante ao longo do ano, tendendo a certo aumento durante a estação de monta, segundo Johnson e Thompson (1983) e Thompson et al. (1986).

Na espécie equina, a gametogênese e a função dos órgãos reprodutivos estão otimizadas durante a estação de monta. No inverno, há um decréscimo na produção espermática (Johnson, 1991), sendo relatadas flutuações relacionadas à sazonalidade para a viabilidade espermática e a motilidade (Magistrini et al., 1987; Hoffmann e Landeck, 1999). De acordo com Guillaume (1996), a fertilidade nos garanhões pode estar reduzida quando os animais estão fora do período reprodutivo, devido à redução na produção de testosterona. Já Skalet et al. (1988) relataram que reprodutores que estão em latitudes entre 30° N e 40° N não exibem as mesmas mudanças dramáticas na atividade reprodutiva com a mudança da estação climática, como os animais de latitudes maiores.

Porém, estes estudos são controversos. Janett et al. (2003) demonstraram que a melhor época para se utilizar o sêmen de garanhões é no período de dias curtos. Neste estudo relataram que, apesar de o volume do ejaculado ser maior durante a estação reprodutiva, o número de espermatozoides morfológicamente viáveis foi maior no outono.

Gamboa et al. (2010) verificaram que a concentração espermática de garanhões de diferentes raças diminui gradativamente, sendo maior no inverno e decrescendo durante a estação de monta. Porém, a qualidade seminal determinada pela motilidade espermática, morfologia, potencial mitocondrial de membrana e estabilidade de membrana, apresentou melhora. Além disso, os autores observaram diferenças individuais na qualidade seminal, sendo que essas diferenças foram menos evidente durante a estação reprodutiva. Tal variação individual entre garanhões é evidente e já foi demonstrada em diversas publicações (Tischner, 1979; Samper et al., 1991; Harkema e Boyle, 1992; Blottner et al., 2001).

Blottner et al. (2001) sugeriram que essa variação sazonal ocorra devido a diferenças circanuais da composição do plasma seminal e dos fatores hormonais. Os componentes do plasma seminal interagem com a superfície do espermatozoide e modificam as características de sua membrana (Hoffmann e Landeck, 1999).

Testosterona

O fotoperíodo parece afetar as características seminais por meio do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal em reprodutores estacionais, assim como os equinos (Pickett et al., 1989). Em um garanhão hírido, o aumento dos níveis plasmáticos de testosterona coincide com o aumento da produção espermática, conforme o animal entra na estação reprodutiva (Clay et al., 1988). Porém, alguns estudos mostraram que a variação na quantidade de testosterona sanguínea não apresenta diferença entre animais férteis e subférteis, para um mesmo período do ano (Roser e Hughes, 1992).

Sabe-se que a produção espermática de um garanhão, assim como sua produção de testosterona, apresenta flutuação sazonal (Johnson, 1991). Tal fato pode tornar as condições sub-ótimas para que ocorra a espermatogênese durante o período de dias curtos, resultando em mudanças na qualidade seminal (Johnson e Thompson, 1987). Em regiões onde a sazonalidade é claramente demarcada, as concentrações dos hormônios sexuais no plasma sanguíneo demonstram um padrão sazonal, de forma que níveis basais de produção ocorrem durante o inverno (Harris et al., 1982; Cox et al., 1988).

Apesar da sazonalidade comprovada dos equinos, os garanhões não sofrem tanto com os efeitos da mudança climática como as éguas. Não ocorre a interrupção da produção de espermatozoides, mas sim uma diminuição das funções testiculares causada por uma menor produção de testosterona fora da estação reprodutiva (Roser e Hughes, 1991, 1992; Roser et al., 1994). Tal diminuição parece afetar mais a função endócrina que a função germinativa testicular (Hoffmann e Landeck, 1999). Em um estudo publicado em 1998, Stewart e Roser relataram um aumento nas concentrações de testosterona intratesticulares no período de setembro a fevereiro (hemisfério norte), embora tenham observado uma tendência à diminuição dos níveis de testosterona plasmática em animais considerados inférteis.

Proteínas do plasma seminal

A determinação de componentes do plasma seminal como parte da avaliação da qualidade do sêmen de garanhões considerados subférteis ou inférteis pode ser muito útil para o conhecimento e diagnóstico clínico dessas enfermidades. Uma vez que o plasma seminal interfere na longevidade dos espermatozoides, a qualidade seminal poderia ser melhorada por meio de modificações na manipulação do mesmo, principalmente em garanhões que produzem espermatozoides com baixa tolerância aos processos de armazenamento (Kareskoski e Katila, 2008). Retamal et al. (2000) sugerem que proteínas de baixo peso molecular produzidas pelo epidídimo ligam-se à superfície do espermatozoide, estão envolvidas no processo de maturação espermática e, aparentemente, são andrógeno-dependentes.

Durante a passagem dos espermatozoides pelo epidídimo, ocorre uma remodelação constante da membrana plasmática, função realizada pelas proteínas presentes no plasma seminal, influenciando na viabilidade espermática (Dacheux et al., 2003; Cornwall, 2009). A presença da testosterona no epitélio



epididimário é essencial para que ocorra a secreção de certas proteínas, porém, algumas são secretadas na ausência do estímulo androgênico (Amann, 1993). McDowell et al. (1996) observaram diferenças na composição protéica do plasma seminal entre cavalos castrados, cavalos não castrados e cavalos castrados suplementados com testosterona. Os autores observaram cinco grupos de proteínas, sendo considerados andrógeno-dependentes dois destes grupos: 60 kDa - pI 7 e 23 kDa - pI 4 a 5. As demais, não foram relacionadas à produção de testosterona: 25 a 30 kDa - pI 5,5 a 6; 23 kDa - pI 7 a 8 e 15 a 20 kDa - pI 6 a 7,5.

Em um estudo realizado por Jobim et al. (2003), empregando eletroforese bidimensional em gel de poliacrilamida a 12%, foram observadas 17 bandas de proteínas de peso molecular variando entre 10 e 80 kDa e ponto isoelétrico entre 3,2 e 8,2, sendo que duas destas proteínas não estavam presentes em garanhões de baixa qualidade seminal e uma foi observada em animais de alta qualidade de sêmen.

De acordo com Amann (1989) a variação que existe no potencial de fertilidade do sêmen equino pode ser relacionada à diferença na composição do plasma seminal entre os indivíduos. Em um estudo realizado pelo mesmo e colaboradores, publicado em 1987, foram verificadas 27 proteínas no plasma seminal, variando de 13 a 122 kDa, sendo que duas dessas proteínas apresentaram correlação com a motilidade dos espermatozoides após o descongelamento.

Algumas proteínas presentes no plasma seminal têm sido identificadas e relacionadas à qualidade espermática. Exemplos são as proteínas secretoras de cisteína (CRISPs), as proteínas da família das espermedesinas e uma família de proteínas com um número variável de domínios de fibronectina tipo II (Reinert et al., 1996; Schambony et al., 1998; Ekhlasi-Hundrieser et al., 2005). Dentre as proteínas da família CRISP, três membros foram relacionados ao potencial reprodutivo dos garanhões, sendo que suas funções específicas ainda permanecem hipotéticas (Schambony et al., 1998; Töpfer-Petersen et al., 2005). Giese et al. (2002a, b) demonstraram que os garanhões apresentam variação considerável na expressão genética dessas proteínas.

Brandon et al. (1999) observaram 14 bandas de proteínas no sêmen de garanhões, sendo que quatro destas proteínas foram correlacionadas às taxas reprodutivas. Análises posteriores de uma destas proteínas relacionadas ao alto potencial reprodutivo revelaram homologia antigênica com a proteína bovina osteopontina verificada por Cancel et al. (1997). As proteínas osteopontina e prostaglandina D2 sintetase foram observadas no sêmen de touros com alto potencial reprodutivo (Cancel et al., 1997; Gerena et al., 1998). Além disso, levantou-se a hipótese de que, por meio de suas massas moleculares, duas proteínas relacionadas à baixa fertilidade seriam similares às duas proteínas encontradas em maior abundância em estudo realizado por Calvete et al. (1994) e Frazer e Bucci (1996).

Considerações finais

A influência da sazonalidade sobre as éguas é bem evidente e elucidada. Porém o mesmo não ocorre nos garanhões, havendo grande variação nos resultados de estudos em diferentes bioclimas. Diante disso, mais pesquisas são necessárias a fim de avaliar o potencial de fertilidade das células espermáticas e os possíveis fatores que influenciam na fertilidade do ejaculado a fim de prever o sucesso da inseminação artificial, como a identificação e quantificação das proteínas variantes no plasma seminal desses animais ao longo do ano, apresentando-se como um parâmetro promissor à avaliação do potencial reprodutivo dos equinos.

Referências

- Amann RP, Cristanelli MJ, Squires EL.** Proteins in stallion seminal plasma. *J Reprod Fertil Suppl*, v.35, p.113-120, 1987.
- Amann RP.** Can the fertility potential of a seminal sample be predicted accurately? *J Androl*, v.10, p.89-98, 1989.
- Amann RP.** Functional anatomy of the adult male. In: McKinnon AO, Voss JL (Ed.). *Equine reproduction*. Philadelphia: Williams and Wilkins, 1993. p.645-657.
- Argo CM, Cox JE, Gray JL.** Effect of oral melatonin treatment on the seasonal physiology of pony stallions. *J Reprod Fertil Suppl*, n.44, p.115-125, 1991.
- Baêta FC, Souza CF.** *Ambiência em edificações rurais - conforto animal*. Viçosa: UFV, 1997. 246p.
- Blottner S, Warnke C, Tuchscherer A, Heinen V, Torner H.** Morphological and functional changes of stallion spermatozoa after cryopreservation during breeding and non-breeding season. *Anim Reprod Sci*, v.65, p.75-88, 2001.
- Brandon CI, Heusner GL, Caudle AB, Fayrer-Hosken RA.** Two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis of equine seminal plasma proteins and their correlation with fertility. *Theriogenology*, v.52, p.863-873, 1999.
- Calvete JJ, Nessau S, Mann K, Sanz L, Sieme H, Klug E, Töpfer-Petersen E.** Isolation and biochemical characterization of stallion seminal-plasma proteins. *Reprod Domest Anim*, v.29, p.411-426, 1994.
- Cancel AM, Chapman DA, Killian GJ.** Osteopontin is the 55-kilodalton fertility-associated protein in Holstein bull seminal plasma. *Biol Reprod*, v.57, p.1293-1301, 1997.



- Chemineau P, Malpaux B, Brillard JP, Fostier A.** Seasonality of reproduction and production in farm fishes, birds and mammals. *Animal*, v.1, p.419-432, 2007.
- Clay CM, Squires EL, Amann RP, Nen TM.** Influences of season and artificial photoperiod on stallions: luteinizing hormone, follicle stimulating hormone and testosterone. *J Anim Sci*, v.66, p.1246-1255, 1988.
- Cornwall GA.** New insights into epididymal biology and function. *Hum Reprod Update*, v.15, p.213-227, 2009.
- Cox JE, Redheat PH, Jaward NMA.** The effect of artificial photoperiod at the end of the breeding season on plasma testosterone concentrations in stallions. *Aust Vet J*, v.65, p.239-241, 1988.
- Dacheux JL, Gatti JL, Dacheaux F.** Contribution of epididymal secretory proteins for spermatozoa maturation. *Microsc Res Tech*, v.61, p.7-17, 2003.
- Daels PF, Hughes JP.** The normal estrous cycle. In: McKinnon AO, Voss JL (Ed.). *Equine reproduction*, Philadelphia: Lea and Febiger, 1993. p.121-132.
- Ekhlas-Hundrieser M, Sch'Afer B, Kirchhoff C, Hess O, Bellair S, Muller P, Töpfer-Petersen E.** Structural and molecular characterization of equine sperm-binding fibronectin-II module proteins. *Mol Reprod Dev*, v.70, p.45-57, 2005.
- Fraser L, Wysocki P, Ciereszko A, Plucienniczak G, Kotłowska M, Kordan W, Wojtczak M, Dietrich G, Strzezek J.** Application of biochemical markers for identification of biological properties of animal semen. *Reprod Biol*, v.6, p.5-20, 2006.
- Frazer GS, Bucci DM.** Characterization of the major polypeptides of equine seminal plasma by two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis. *Theriogenology*, v.46, p.1389-1402, 1996.
- Gamboa S, Rodrigues AS, Henriques L, Batista C, Ramalho-Santos J.** Seasonal functional relevance of sperm characteristics in equine spermatozoa. *Theriogenology*, v.73, p.950-958, 2010.
- Gerena RL, Irikura D, Urade Y, Eguchi N, Chapman DA, Killian GJ.** Identification of a fertility-associated protein in bull seminal plasma as lipocalin-type prostaglandin D synthase. *Biol Reprod*, v.58, p.826-833, 1998.
- Gerlach T, Aurich JE.** Regulation of seasonal reproductive activity in stallion, ram and hamster. *Anim Reprod Sci*, v.58, p.197-213, 2000.
- Giese A, Jude R, Kuiper H, Piumi F, Schambony A, Guerin G, Distl O, Töpfer-Petersen E, Leeb T.** Molecular characterization of the equine AEG1 locus. *Gene*, v.292, p.65-72, 2002a
- Giese A, Jude R, Kuiper H, Raudsepp T, Piumi F, Schambony A, Guerin G, Chowdhary BP, Distl O, Töpfer-Petersen E, Leeb T.** Molecular characterization of the equine testis-specific protein 1 (TPX1) and acidic epididymal glycoprotein 2 (AEG2) genes encoding members of the cysteine-rich secretory protein (CRISP) family. *Gene*, v.299, p.101-109, 2002b.
- Ginther OJ.** Reproductive biology of the mare: basic and applied aspects. Wisconsin: Cross Plains, 1992. 642p.
- Guillaume D.** Photoperiod action on equine reproduction. *INRA Prod Anim*, v.9, p.61-69, 1996
- Harkema W, Boyle MS.** Use of fluorescent stains to assess membrane integrity of equine spermatozoa. In: *International Congress on Animal Reproduction*, 12, 1992, The Hague, Netherlands. Proceedings... The Hague: ICAR, 1992. v.3, p.1424-1426.
- Harris JM, Irvine GHG, Evans MJ.** Seasonal changes in serum levels of FSH, LH and testosterone and in semen parameters in stallions. *Theriogenology*, v.19, p.311-321, 1982.
- Hoffmann B, Landeck A.** Testicular endocrine function, seasonality and semen quality of the stallion. *Anim Reprod Sci*, v.57, p.89-98, 1999.
- Janett F, Thun R, Niederer K, Burger D, Hassig M.** Seasonal changes in semen quality and freezability in the Warmblood stallion. *Theriogenology*, v.60, p.453-461, 2003.
- Jasko DJ, Lein DH, Foote RH.** Determination of the relationship between sperm morphologic classification and fertility in stallion: 66 cases (1987-1988). *J Am Vet Med Assoc*, v.197, p.389-394, 1990.
- Jobim MIM, Smitt FL, Oberst ER, Bronzatto M, Kroth E, Smiderle W, Mattos RC.** Perfil protéico do plasma seminal de garanhões de alta e baixa qualidade de sêmen. *Rev Bras Reprod Anim*, v.27, p.209-211, 2003.
- Johnson L.** Seasonal differences in equine spermatocytogenesis. *Biol Reprod*, v.44, p.284-291, 1991.
- Johnson L, Thompson DL Jr.** Age-related and seasonal variation in the Sertoli cell population. daily sperm production and serum concentrations of follicle-stimulating hormone. luteinizing hormone and testosterone in stallions. *Biol Reprod*, v.29, p.777-789, 1983.
- Johnson L, Thompson DL Jr.** Effect of seasonal changes in leydig cell number on the volume of smooth endoplasmic reticulum in leydig cells and intratesticular testosterone content in stallions. *J Reprod Fertil*, v.81, p.227-232, 1987.
- Kareskoski M, Katila T.** Components of stallion seminal plasma and effects of seminal plasma on sperm longevity. *Anim Reprod Sci*, v.107, p.249-256, 2008.
- Magistrini M, Chanteloube P, Palmer E.** Influence of season and frequency of ejaculation on production of stallion semen for freezing. *J Reprod Fertil Suppl*, v.35, p.127-133, 1987.
- Malpaux B.** Seasonal regulation of reproduction in mammals. In: Neill JD (Ed.). *Knobil and Neill's physiology of reproduction*. 3.ed. Amsterdam: Elsevier, 2006. p.2231-2281.
- Malpaux B, Migaud M, Tricoire H, Chemineau P.** Biology of mammalian protoperiodism and the critical role of the pineal gland and melatonin. *J Biol Rhythms*, v.16, p.336-347, 2001.



- McDowell KJ, Little TV, Timoney PJE, Adams MH.** Characterisation of proteins in the seminal plasma of stallions, geldings and geldings supplemented with testosterone. *Res Vet Sci*, v.61, p.33-37, 1996.
- Miller DJ, Winer MA, Ax RL.** Heparin-binding proteins from seminal plasma bind to bovine spermatozoa and modulate capacitation by heparin. *Biol Reprod*, v.42, p.899-915, 1990.
- Morais RN.** Contribuição ao estudo da biologia reprodutiva de jumentos (*Equus asinus*). 1990. 105f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, São Paulo, SP, 1990.
- Morrell JM, Johannisson A, Dalin AM, Hammar L, Sandebert T, Rodriguez-Martinez H.** Sperm morphology and chromatin integrity in Swedish warmblood stallions and their relationship to pregnancy rates. *Acta Vet Scand*, v.50, p.220-228, 2008.
- Morte IM, Rodrigues AM, Soares D, Rodrigues AS, Gamboa S, Ramalho-Santos J.** The quantification of lipid and protein oxidation in stallion spermatozoa and seminal plasma: Seasonal distinctions and correlations with DNA strand breaks, classical seminal parameters and stallion fertility. *Anim Reprod Sci*, v.106, p.36-47, 2008.
- Nagy P, Guillaume D, Daels P.** Seasonality in mares. *Anim Reprod Sci*, v.60/61, p.245-262, 2000.
- Oliveira LA, Campbel JEG, Azevedo DMMR, Costa APR, Turco SHN, Moura JWS.** Estudo de respostas fisiológicas de equinos sem raça definida e da raça quarto de milha às condições climáticas de Teresina, Piauí. *Ciênc Anim Bras*, v.9, p.827-838, 2008.
- Pickett BW, Faulkner LC, Seidel GE, Berndtson WE, Voss JL.** Reproductive physiology of the stallion. VI. Seminal and behavioral characteristics. *J Anim Sci*, v.43, p.617-625, 1976.
- Pickett BW, Amann RP, Mckinnon AO, Squires EL, Voss JL.** Frequency of ejaculation. In: Pickett BW, Voss AL, Squires EL, Amann RP (Ed.). *Management of the stallion for maximum reproductive efficiency*. Fort Collins, CO: Colorado State University, 1989. p.73-81.
- Reinert M, Calvete JJ, Sanz L, Mann K, Töpfer-Petersen E.** Primary structure of stallion seminal plasma protein HSP-7, a zona-pellucida-binding protein of the spermadhesin family. *Eur J Biochem*, v.242, p.636-640, 1996.
- Reiter RJ, Tan DX, Manchester LC, Paredes SD, Mayo JC, Sainz RM.** Melatonin and reproduction revisited. *Biol Reprod*, v.81, p.445-456, 2009.
- Retamal C, Urzúa J, Alves EW, López ML.** Cytochemical and electrophoretic study of the stallion epididimal glycoproteins. *J Submicrosc Cytol Pathol*, v.32, p.117-130, 2000.
- Roser JF, Hughes JP.** Prolonged pulsatile administration of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) to fertile stallions. *J Reprod Fertil Suppl*, n.44, p.155-168, 1991.
- Roser JF, Hughes JP.** Seasonal effects on seminal quality, plasma hormone concentrations, and GnRH induced LH response in fertile and subfertile stallions. *J Androl*, v.13, p.214-223, 1992.
- Roser JF, McCue PM, Hoye E.** Inhibin activity in the mare and stallion. *Domest Anim Endocrinol*, v.11, p.87-100, 1994.
- Samper JC, Hellander JC, Crabo BG.** Relationship between the fertility of fresh and frozen stallion semen and semen quality. *J Reprod Fertil Suppl*, n.44, p.107-114, 1991.
- Schambony A, Hess O, Gentzel M, Töpfer-Petersen E.** Expression of CRISP proteins in the male equine genital tract. *J Reprod Fertil Suppl*, n.53, p.67-72, 1998.
- Sharp DC, Grubaugh WR, Berglund LA, Seamans KW.** Isoproterenol-stimulation of melatonin release in mares. *J Anim Sci*, v.51, suppl.1, p.534, 1980.
- Sharp DC, Grubaugh WR, Gum GG, Wirsig CR.** Demonstration of a direct retinohypothalamic projection in the mare. *Biol Reprod*, v.30, suppl.1, p.156, 1984.
- Skalet LH, Rodrigues HD, Goyal HO, Maloney MA, Vig MM, Noble RC.** Effects of age and season on the type and occurrence of sperm abnormalities in Nubian bucks. *Am J Vet Res*, v.49, p.1284-1289, 1988.
- Sousa CEC, Cruz-Machado SS, Tamura EK.** Os ritmos circadianos e a reprodução em mamíferos. *Bol Centro Biol Reprod*, v.26, p.15-21, 2008.
- Stanbenfeldt GH, Edqvist L.** Processos reprodutivos do macho. In: Swenson MJ, Reece W (Ed.). *Dukes fisiologia dos animais domésticos*. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. p. 603-614.
- Stewart BL, Roser JF.** Effects of age, season and fertility status on plasma and intratesticular immunoreactive (IR) inhibin concentrations in stallions. *Domest Anim Endocrinol*, v.15, p.129-139, 1998.
- Thompson DL, Johnson L, St George RL, Garza F.** Concentrations of prolactin, luteinizing hormone and follicle stimulating hormone in pituitary and serum of horses: effect of sex, season and reproductive state. *J Anim Sci*, v.63, p.854-860, 1986.
- Tischner M.** Evaluation of deep-frozen semen in stallions. *J Reprod Fertil Suppl*, n.27, p.53-59, 1979.
- Töpfer-Petersen E, Ekhlasi-Hundrieser M, Kirchhoff C, Leeb T, Sieme, H.** The role of stallion seminal proteins in fertilization. *Anim Reprod Sci*, v.89, p.159-170, 2005.
- Wrench N, Pinto CRF, Klinefelter GR, Dix DJ, Flowers WL, Farin CE.** Effect of season on fresh and cryopreserved stallion semen. *Anim Reprod Sci*, v.119, p.219-227, 2010.