

Valeska Regina Reque Ruiz  
(Organizadora)

# Investigação Científica e Técnica em Ciência Animal 2



**Atena**  
Editora  
Ano 2019

Valeska Regina Reque Ruiz  
(Organizadora)

# Investigação Científica e Técnica em Ciência Animal 2

Atena Editora  
2019

2019 by Atena Editora  
Copyright © Atena Editora  
Copyright do Texto © 2019 Os Autores  
Copyright da Edição © 2019 Atena Editora  
Editora Executiva: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Antonella Carvalho de Oliveira  
Diagramação: Rafael Sandrini Filho  
Edição de Arte: Lorena Prestes  
Revisão: Os Autores

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

### **Conselho Editorial**

#### **Ciências Humanas e Sociais Aplicadas**

Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília  
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Cristina Gaio – Universidade de Lisboa  
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia  
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice  
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

#### **Ciências Agrárias e Multidisciplinar**

Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

#### **Ciências Biológicas e da Saúde**

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina  
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria  
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará

Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

### **Ciências Exatas e da Terra e Engenharias**

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto  
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

### **Conselho Técnico Científico**

Prof. Msc. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo  
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba  
Prof. Msc. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão  
Prof.ª Drª Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico  
Prof. Msc. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Msc. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará  
Prof. Msc. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista  
Prof.ª Msc. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia  
Prof. Msc. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof.ª Msc. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal  
Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

<b>Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)</b>	
l62	Investigação científica e técnica em ciência animal 2 [recurso eletrônico] / Organizadora Valeska Regina Reque Ruiz. – Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2019. – (Investigação Científica e Técnica em Ciência Animal; v. 2)  Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso: World Wide Web Inclui bibliografia ISBN 978-85-7247-626-3 DOI 10.22533/at.ed.263191209  1. Ciência animal. 2. Zoologia. 3. Zootecnia. I. Título.  CDD 636
<b>Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422</b>	

Atena Editora  
Ponta Grossa – Paraná - Brasil  
[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)  
contato@atenaeditora.com.br

## APRESENTAÇÃO

Em todas as áreas de conhecimento a pesquisa é uma das formas de se alcançar respostas e dar origem a teorias. Para se criar uma teoria não é suficiente a afirmação de uma suposição, deve-se seguir algumas fases do que é chamado de investigação científica, que através de procedimento lógico, produz conhecimento científico testado, comprovado e seguro. As fases que devem ser seguidas são a observação, as hipóteses, o método de pesquisa e a conclusão.

Desta forma os estudos científicos (prático) têm a intenção de aumentar os horizontes destas teorias, servindo para contrapor ou melhorá-las, podendo acrescentar informações, integrar dados, corrigir resultados ou ainda expandir os grupos de estudo.

Neste segundo volume, a Atena Editora traz Investigações e técnicas científicas na área de Medicina Veterinária e Zootecnia, abrangendo diversas culturas (apicultura, avicultura, bovinocultura, caprinocultura, cinocultura, ovinocultura e piscicultura) e a investigação científica dentro da clínica médica veterinária, onde você poderá aprofundar seus conhecimentos na área e conhecer as técnicas utilizadas para o estudo científico.

Boa leitura!

Valeska Regina Reque Ruiz

# SUMÁRIO

## 1. APICULTURA

### CAPÍTULO 1 ..... 1

PLANTAS MEDICINAIS VISITADAS POR ABELHAS *Apis mellífera L.*

Glacyane Costa Gois  
Anderson Antônio Ferreira da Silva  
Rosa Maria dos Santos Pessoa  
Tiago Santos Silva  
Fleming Sena Campos  
Dinah Correia da Cunha Castro Costa  
Cleyton de Almeida Araújo  
Cristina Aparecida Barbosa de Lima  
Diego de Sousa Cunha  
Amanda Silva de Lima  
Jaíne Santos Amorim  
Luciana Rodrigues de Lima

DOI 10.22533/at.ed.2631912091

### CAPÍTULO 2 ..... 11

USO DE PÓLEN APÍCOLA COMO ADITIVO EM DIETAS AQUÍCOLAS

Fernanda Picoli  
Diogo Luiz de Alcantara Lopes  
Leonardo Severgnini  
Suélen Serafini  
Patrícia Muller  
Marcio Patrik da Cruz Valgoi  
Pamela Aethana Minuzzo  
Janaina Martins de Medeiros  
Mariana Nunes de Souza

DOI 10.22533/at.ed.2631912092

## 2. AVICULTURA

### CAPÍTULO 3 ..... 21

INFLUÊNCIA DA INCLUSÃO DO FARELO DE ARROZ INTEGRAL SOBRE A TEMPERATURA CORPORAL DE FRANGOS DE CORTE DE LINHAGEM CAIPIRA PEDRÊS

Darison Silva de Alencar  
Marcelo Batista Bezerra  
Kelen Rodrigues Macedo  
Henrique Jorge de Freitas  
Fabio Augusto Gomes

DOI 10.22533/at.ed.2631912093

### CAPÍTULO 4 ..... 31

INFECÇÃO PARASITÁRIA EM EMAS (*Rhea americana*) CRIADAS EM CATIVEIRO

Juliane Nunes Pereira Costa  
Fernanda Samara Barbosa Rocha  
Laylson da Silva Borges  
Joilson Ferreira Batista  
Ivete Lopes de Mendonça

DOI 10.22533/at.ed.2631912094

**CAPÍTULO 5 ..... 38**

AVALIAÇÃO DO CONFORTO TÉRMICO E PESO CORPORAL DE GUINÉ (*Numida meleagris*), ALOJADOS NA FAZENDA ESCOLA DO CENTRO UNIVERSITÁRIO CESMAC

Valesca Barreto Luz  
Bruno Santos Braga Cavalcanti  
José Ferreira Nunes  
Francisco Militão de Sousa  
Alice Cristina Oliveira Azevedo  
Gilsan Aparecida de Oliveira  
Silvio Romero de Oliveira Abreu  
Marcos Antônio Vieira Filho

**DOI 10.22533/at.ed.2631912095**

**CAPÍTULO 6 ..... 43**

CONSERVAÇÃO DE AVES CAIPIRAS “SURU” NA REGIÃO SUL DE MATO GROSSO, BRASIL

Antônio Rodrigues da Silva  
Christiane Silva Souza  
Mariana Mendes Marques  
Túlio Leite Reis  
Luis Carlos Oliveira Borges

**DOI 10.22533/at.ed.2631912096**

**3. BOVINOCULTURA**

**CAPÍTULO 7 ..... 49**

AVALIAÇÃO DO ÍNDICE DE TEMPERATURA E UMIDADE (ITU) SOBRE BEM-ESTAR DE BEZERROS DAS RAÇAS GIR E GIROLANDO NA REGIÃO DO CARIRI CEARENSE

Maria Tamyres Barbosa do Nascimento Conrado  
Francisco Luan Fernandes Ferreira  
Domenik Conrado Palacio  
Mirelle Tainá Vieira Lima  
Wictor Allyson Dias Rodrigues  
José Valmir Feitosa  
Antônio Nelson Lima da Costa

**DOI 10.22533/at.ed.2631912097**

**4 CAPRINOCULTURA**

**CAPÍTULO 8 ..... 53**

AVALIAÇÃO ESTRUTURAL DE ESPERMATOZOIDES CAPRINOS LOCALMENTE ADAPTADOS CRIOPRESERVADOS NO PERÍODO SECO

Jefferson Hallisson Lustosa da Silva  
Felipe Pereira da Silva Barçante  
Marcos Antônio Celestino de Sousa Filho  
Dayana Maria do Nascimento  
Dayse Andrade Barros  
Yndyra Nayan Teixeira Carvalho Castelo Branco  
Micherlene da Silva Carneiro Lustosa  
Viviany de Sousa Rodrigues  
Filipe Nunes Barros  
Antônio de Sousa Junior  
Isôlda Márcia Rocha do Nascimento  
José Adalmir Torres de Souza

**DOI 10.22533/at.ed.2631912098**

**CAPÍTULO 9 ..... 62**

**THERMOREGULATORY RESPONSES OF GOATS REARED IN THE BRAZILIAN SEMIARID REGION**

Laylson da Silva Borges  
Geandro Carvalho Castro  
João Lopes Anastácio Filho  
Isak Samir de Sousa Lima  
Flávio Carvalho de Aquino  
Marcelo Richelly Alves de Oliveira  
Amauri Felipe Evangelista  
Wéverton José Lima Fonseca  
Fernanda Samara Barbosa Rocha

**DOI 10.22533/at.ed.2631912099**

**CAPÍTULO 10 ..... 69**

**TAXA DE GESTAÇÃO DE HEMI-EMBRIÕES CAPRINOS TRANSFERIDOS**

Isôlda Márcia Rocha do Nascimento  
Jefferson Hallisson Lustosa da Silva  
Felipe Pereira da Silva Barçante  
Marcos Antônio Celestino de Sousa Filho  
Yndyra Nayan Teixeira Carvalho Castelo Branco  
Marlon de Araújo Castelo Branco  
Leopoldina Almeida Gomes  
Micherlene da Silva Carneiro Lustosa  
Viviany de Sousa Rodrigues  
Filipe Nunes Barros  
Antônio de Sousa Junior  
José Adalmir Torres de Souza

**DOI 10.22533/at.ed.26319120910**

**5. CINOCULTURA**

**CAPÍTULO 11 ..... 79**

**IMPORTÂNCIA DA NUTRIÇÃO PARA NEONATOS CANINOS**

Priscila Melo Santos  
Érica Pereira Matias  
Bruna Cristina da Silva Rocha  
Vanessa Pereira de Oliveira  
Nicole Valcacio Oliveira  
Alessandra Boccuto da Silva Santos  
Erica Elias Baron

**DOI 10.22533/at.ed.26319120911**

**6. CLÍNICA MÉDICA VETERINÁRIA**

**CAPÍTULO 12 ..... 84**

**CARACTERIZAÇÃO DOS PARÂMETROS CIRCULATÓRIOS DA ARTÉRIA SUPRA TESTICULAR EM TOUROS JOVENS DA RAÇA ABERDEEN ANGUS**

Felipe Gabriel Cividini  
Edgard Hideaki Hoshi  
Marcelo Diniz dos Santos  
Marcos Barbosa Ferreira  
Fabiola Cristine de Almeida Grecco  
Luiz Fernando Coelho da Cunha Filho

Flávio Guiselli Lopes

DOI 10.22533/at.ed.26319120912

**CAPÍTULO 13 ..... 91**

OCORRÊNCIA DE MASTITE CLÍNICA E SUBCLÍNICA EM VACAS MESTIÇAS DO MUNICÍPIO DE RIO BRANCO-AC

Larissa de Freitas Santiago Israel  
Luciana nos Santos Medeiros

DOI 10.22533/at.ed.26319120913

**CAPÍTULO 14 ..... 97**

PREVALÊNCIA DE DESORDENS REPRODUTIVAS NO PERÍODO PÓS-PARTO EM VACAS LEITEIRAS

Marco Túlio Resende dos Reis  
Cristiano Oliveira Pereira  
Matheus Soares  
Silas Sabino Nogueira  
Márcio Gabriel Ferreira Gonçalves  
Bruno Robson Santos  
Marcos Felipe de Oliveira  
Bianca Gonçalves Soares Prado  
Tatiana Nunes de Rezende  
David Carvalho Vieira Barreiros  
Lucas Moraes da Silva Neto  
João Bosco Barreto Filho

DOI 10.22533/at.ed.26319120914

**CAPÍTULO 15 ..... 108**

DESEMPENHO DE COELHOS DE CORTE COM E SEM SUPLEMENTAÇÃO COM CAPIM ELEFANTE (*Pennisetum Purpureum*)

Ana Carolina Kohlrausch Klinger  
Diuly Bortoluzzi Falcone  
Geni Salete Pinto de Toledo  
Aline Neis Knob  
Leila Picolli da Silva

DOI 10.22533/at.ed.26319120915

## **7. OVINOCULTURA**

**CAPÍTULO 16 ..... 114**

EFEITO DE DIFERENTES MOMENTOS DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL LAPAROSCÓPICA EM PROGRAMAS COMERCIAIS DE MÚLTIPLA OVULAÇÃO E TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EM OVINOS

Valdir Moraes de Almeida  
Carlos Enrique Peña-Alfaro  
Gustavo Ferrer Carneiro  
André Mariano Batista  
Gabrielly Medeiros Araújo Moraes  
Luanna Figueirêdo Batista  
Rodrigo Alves Monteiro  
Willder Rafael Ximenes Cunha  
Sérgio dos Santos Azevedo

DOI 10.22533/at.ed.26319120916

**CAPÍTULO 17 ..... 124**

RENDIMENTO DA BUCHADA E DA PANELADA DE OVINOS ALIMENTADOS COM SILAGENS DE ESPÉCIES FORRAGEIRAS ADAPTADAS AO SEMIÁRIDO

Fleming Sena Campos  
Gleudson Giordano Pinto de Carvalho  
Edson Mauro Santos  
Gherman Garcia Leal de Araújo  
Glayciane Costa Gois  
Juliana Silva de Oliveira  
Tiago Santos Silva  
André Luiz Rodrigues Magalhães  
Cleyton de Almeida Araújo  
Rodolpho Almeida Rebouças  
Daniel Bezerra do Nascimento  
Getulio Figueiredo de Oliveira

**DOI 10.22533/at.ed.26319120917**

**CAPÍTULO 18 ..... 135**

RECUPERAÇÃO, CONGELAÇÃO E FERTILIDADE DE ESPERMATOZOIDES OVINOS OBTIDOS *post mortem*

Tácia Gomes Bergstein-Galan  
Romildo Romualdo Weiss  
Sony Dimas Bicudo

**DOI 10.22533/at.ed.26319120918**

**8. PISCICULTURA**

**CAPÍTULO 19 ..... 145**

CARACTERIZAÇÃO SOCIODEMOGRÁFICA DOS PRODUTORES DE TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*) DO AÇUDE DO CASTANHÃO

Rôger Oliveira e Silva  
Jose Aldemy de Oliveira Silva  
Gilmar Amaro Pereira  
Flaviana Gomes da Silva  
Juliano dos Santos Macedo  
Francisco Messias Alves Filho

**DOI 10.22533/at.ed.26319120919**

**CAPÍTULO 20 ..... 150**

LEVANTAMENTO DA ASSISTÊNCIA TÉCNICA DOS PRODUTORES DE TILÁPIADO NILO (*Oreochromis niloticus*) NO AÇUDE CASTANHÃO

Rôger Oliveira e Silva  
Jose Aldemy de Oliveira Silva  
Gilmar Amaro Pereira  
Flaviana Gomes da Silva  
Juliano dos Santos Macedo  
Francisco Messias Alves Filho

**DOI 10.22533/at.ed.26319120920**

**CAPÍTULO 21 ..... 155**

O PAPEL DE CÉLULAS T CD4+ E MHC DE CLASSE II NA NEFROPATIA DA LEPTOSPIROSE EM SUÍNOS

Larissa Maria Feitosa Gonçalves

Ângela Piauilino Campos  
Karina Oliveira Drumond  
Micherlene da Silva Carneiro Lustosa  
Elis Rosélia Dutra de Freitas Siqueira Silva  
Vanessa Castro  
Felicianna Clara Fonseca Machado  
Antonio Augusto Nascimento Machado Júnior  
Ana Lys Bezerra Barradas Mineiro  
Jackson Brendo Gomes Dantas  
Thiago Emanuel de Amorim  
Francisco Assis Lima Costa

**DOI 10.22533/at.ed.26319120921**

<b>SOBRE A ORGANIZADORA.....</b>	<b>167</b>
<b>ÍNDICE REMISSIVO .....</b>	<b>168</b>

## RECUPERAÇÃO, CONGELAÇÃO E FERTILIDADE DE ESPERMATOZOIDES OVINOS OBTIDOS *POST MORTEM*

**Tácia Gomes Bergstein-Galan**

Universidade Positivo  
Curitiba – Paraná

**Romildo Romualdo Weiss**

Universidade Federal do Paraná, Departamento  
de Medicina Veterinária  
Curitiba – Paraná

**Sony Dimas Bicudo**

Universidade Estadual de São Paulo,  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia,  
Departamento de Reprodução Animal e  
Radiologia Veterinária  
Botucatu – São Paulo

**RESUMO:** A recuperação e congelação de espermatozoides de reprodutores geneticamente superiores que morrem inesperadamente é a última opção de perpetuação de seu material genético. O período pelo qual é possível recuperar e preservar estes gametas varia conforme diversos fatores, como espécie animal e temperatura de armazenamento dos epidídimos. Este capítulo retrata uma revisão bibliográfica sobre os métodos de recuperação, o período máximo *post mortem* em que é possível recuperar e congelar espermatozoides epididimários ovinos e a fertilidade das amostras recuperadas *post mortem* em programas de inseminação artificial em ovelhas. Ao final, com base na discussão

bibliográfica, os autores concluem que é possível recuperar espermatozoides ovinos congeláveis, sem prejuízo a viabilidade e fertilidade, até 24 horas após a morte quando os epidídimos são mantidos a temperatura ambiente.

**PALAVRAS-CHAVE:** epidídimos, carneiro, criopreservação

### RECOVERY, FREEZING AND FERTILITY OF OVINE SPERMATOZOA OBTAINED POST-MORTEM

**ABSTRACT:** Recovery and freezing of spermatozoa from genetically superior breeding animals that die unexpectedly is the last opportunity to perpetuate their genetic material. The period by which it is possible to recover and preserve these gametes varies according to several factors, such as animal species and storage temperature of the epididymis. This chapter describes a literature review on recovery methods, the maximum post-mortem period in which it is possible to recover and freeze ovine epididymal spermatozoa and the fertility of recovered post-mortem samples in artificial insemination programs in sheep. Finally, based on the literature, the authors conclude that it is possible to recover freezable ovine spermatozoa, without prejudicing viability and fertility, until 24 hours

after death when the epididymites are kept at room temperature.

**KEYWORDS:** epididymites, ram, cryopreservation

## 1 | INTRODUÇÃO

A cauda do epidídimo no macho é responsável pelo armazenamento de espermatozoides até o momento da ejaculação e promove um ambiente favorável às células, preservando sua capacidade de fertilização por algumas semanas (JONES, 2004). Após a morte, os espermatozoides em machos e os oócitos em fêmeas permanecem viáveis por algum tempo (MARTINS et al., 2009). A recuperação de espermatozoides da cauda de epidídimo *post mortem* pode ser a última chance de obter o material genético de reprodutores de genótipos superiores (GARCÍA-ÁLVAREZ et al., 2009; MONTEIRO et al., 2013).

Estudos relatam que é possível recuperar espermatozoides viáveis da cauda de epidídimo após a morte em diversas espécies (KAABI et al., 2003; MARTINEZ-PASTOR et al., 2006; WEISS et al., 2008). Quando recuperados pouco tempo *post mortem*, os espermatozoides da cauda do epidídimo apresentam a mesma qualidade do sêmen colhido em vagina artificial (ÁLVAREZ et al., 2012) e melhor qualidade quando comparado ao sêmen colhido por eletro ejaculação (GARCÍA-ÁLVAREZ et al., 2009). A recuperação espermática *post mortem* tem aplicações importantes na manutenção de bancos de germoplasma de animais de interesse zootécnico que morreram inesperadamente e de espécies ameaçadas de extinção (KAABI et al., 2003).

O tempo entre a morte e a recuperação dos espermatozoides da cauda do epidídimo, além da temperatura de manutenção do órgão desde o óbito até a coleta e criopreservação, interferem na viabilidade e congelabilidade da amostra espermática (BERTOL et al., 2013; MARTINS et al., 2009). É importante que as amostras recuperadas após a morte possam ser congeladas no momento de sua recuperação, visto que este é o método definitivo de manutenção da capacidade fertilizante dos espermatozoides (BERGSTEIN-GALAN et al., 2017a; SALAMON; MAXWELL, 2000).

Neste capítulo será abordado os métodos de recuperação espermática, o período máximo *post mortem* em que é possível recuperar e congelar espermatozoides epididimários de ovinos e a fertilidade das amostras recuperadas após o óbito em programas de inseminação artificial em ovelhas.

## 2 | RECUPERAÇÃO ESPERMÁTICA *POST MORTEM*

A recuperação de espermatozoides viáveis após a morte já foi descrita em diversas espécies (Kaabi et al., 2003; Tittarelli et al., 2006; Weiss et al., 2008).

Existem dois métodos principais para recuperação espermática da cauda do epidídimo (1) lavagem retrograda com meio diluidor através do ducto deferente

e (2) realização de diversos cortes da cauda do epidídimo e imediata diluição em meios diluidores apropriados (Figura 1). Apesar de o método de lavagem retrograda produzir amostras de melhor qualidade (MARTINEZ-PASTOR et al., 2006) existem limitações para realizar este método em ovinos, principalmente pelo diminuto calibre dos túbulos epididimários e dificuldade de dissecação do tecido conjuntivo que os envolve (BERGSTEIN-GALAN et al., 2018a).

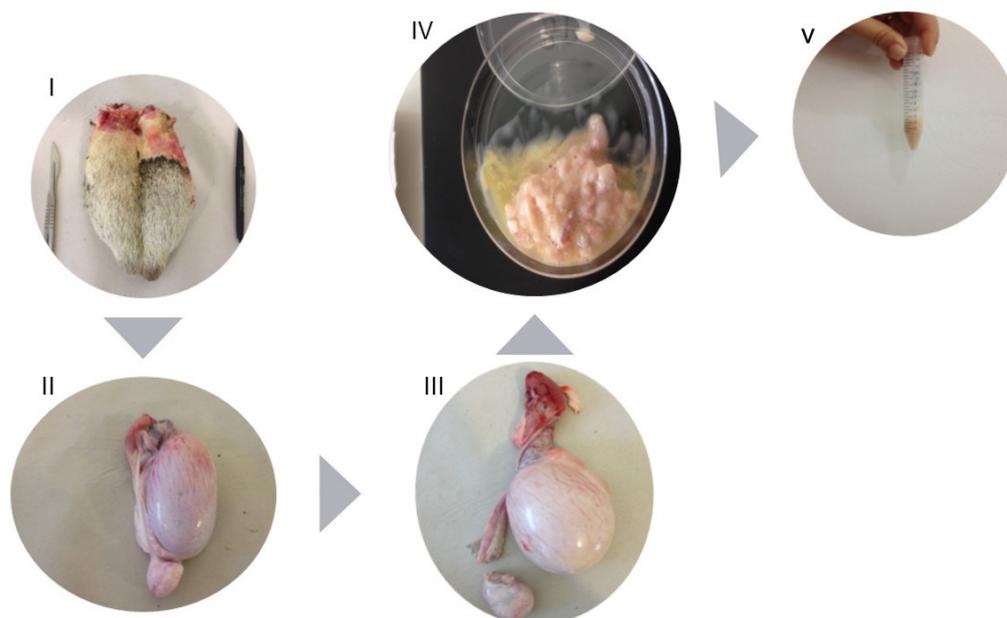


Figura 1. Fluxograma do método de recuperação espermática post mortem pelo método de cortes. I. Complexo testículos-epidídimos-escroto de carneiro. II. Complexo testículo-epidídimo de carneiro. III. Secção da cauda do epidídimo na divisão entre cauda e corpo do epidídimo. IV. Cauda do epidídimo seccionada em diversos cortes e imersa em meio diluidor de sêmen. V. Espermatozoides epididimários diluídos em meio diluidor e prontos para o processamento.

Utilizando o método de cortes os trabalhos relatam recuperação espermática ao redor de 6 bilhões de espermatozoides por cauda do epidídimo (BERGSTEIN-GALAN et al., 2018a; KAABI et al., 2003; LONE et al., 2011), dose suficiente para inseminar até 60 ovelhas (BERGSTEIN-GALAN et al., 2018b). Entretanto a partir de 48 horas *post mortem* a recuperação espermática cai a concentrações próximas a 2 bilhões de espermatozoides por cauda de epidídimo (BERGSTEIN-GALAN et al., 2018a; LONE et al., 2011). A diminuição da motilidade total e da viabilidade espermática durante o período *post mortem* pode ser responsável pela diminuição da taxa de recuperação pelo método de cortes, visto que a técnica é baseada na migração das células espermáticas do tubo epididimário até o meio diluidor (BERGSTEIN-GALAN et al., 2018a).

A motilidade total (MT) é o parâmetro espermático que mais sofre interferência do tempo após a morte (MARTINEZ-PASTOR et al., 2005b). KAABI et al. (2003) verificaram, em carneiros, a diminuição ( $P < 0.05$ ) na MT a partir de 24 horas *post mortem* e da porcentagem de células íntegras no teste hiposmótico a partir de 48 horas após a morte do animal, quando os epidídimos são mantidos à temperatura

ambiente (22°C).

BERGSTEIN-GALAN et al. (2018) estudaram o efeito do tempo *post mortem* na viabilidade de espermatozoides epididimários ovinos mantidos a temperatura ambiente e compararam a viabilidade espermática com a de amostras seminais coletadas em vagina artificial. No mesmo estudo os autores relataram que é possível recuperar espermatozoides de carneiros com motilidade e viabilidade até 48 horas após a morte, porém, a partir de 24 horas existe um decréscimo significativo da motilidade espermática (Figura 2).

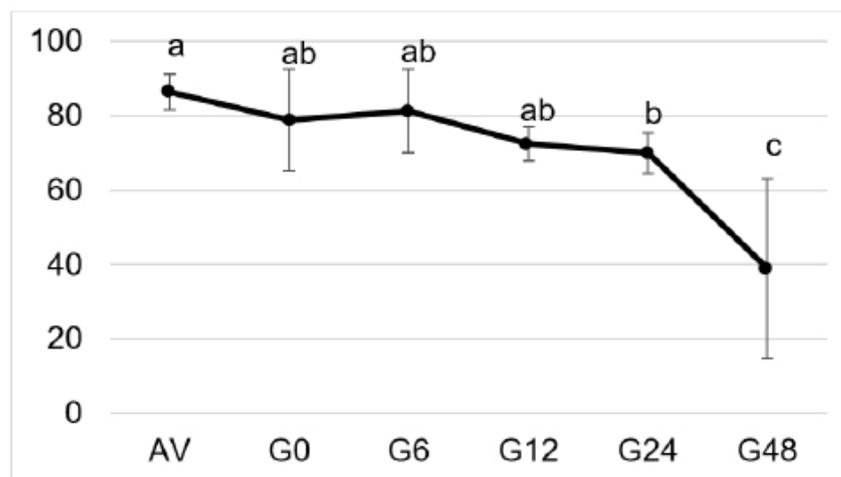


Figura 2. Motilidade total do sêmen ovino coletado em vagina artificial (AV) e amostras recuperadas de epidídimos mantidos a temperatura ambiente por 0 (G0), 6 (G6), 12 (G12), 24 (G24) e 48(G48) horas após a morte. Letras diferentes indicam diferenças significativa ( $P<0,05$ ) entre grupos. (Adaptado de BERGSTEIN-GALAN et al. (2018)).

Alguns estudos relataram que a MT e viabilidade dos espermatozoides diminuem a partir de 48 horas após a morte dos animais em cervídeos (MARTINEZ-PASTOR et al., 2005b), ovinos (TAMAYO-CANUL et al., 2011) e bovinos(MARTINS et al., 2009), contudo estes autores avaliaram epidídimos que foram refrigerados entre 4 e 5°C, demonstrando que a estocagem dos epidídimos a menores temperaturas prolonga a sobrevivência espermática.

### 3 | COGELABILIDADE DE ESPERMATOZOIDEOS

Além de recuperar os espermatozoides viáveis a partir da cauda de epidídimos, é substancial que no momento da recuperação ainda seja possível congelar as amostras obtidas(BERGSTEIN-GALAN et al., 2017a).

BERGSTEIN-GALAN et al. (2017b) avaliaram a viabilidade e fertilidade de espermatozoides epididimários ovinos após descongelação quando os epidídimos foram mantidos à temperatura entre 18 e 25°C até 48 horas após a morte. Estes mesmos autores usaram como controle o sêmen coletado em vagina artificial (AV). Na Figura 3 está demonstrada a MT, motilidade progressiva (MP) e viabilidade resultante deste estudo.

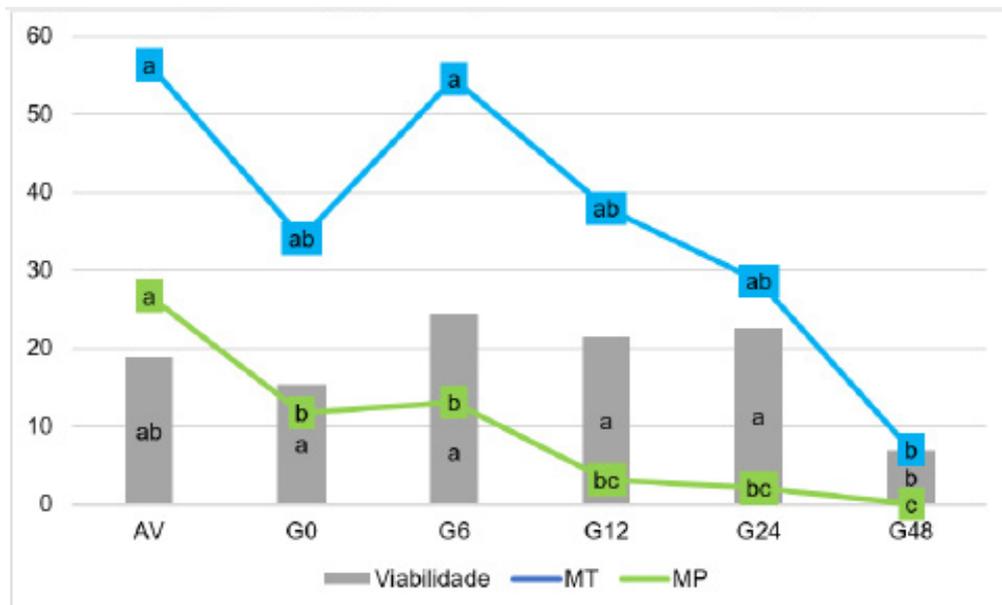


Figura 3. Motilidade total (MT), motilidade progressiva (MP) e viabilidade do sêmen ovino coletado em vagina artificial (AV) e amostras recuperadas de epidídeos mantidos a temperatura ambiente por 0 (G0), 6 (G6), 12 (G12), 24 (G24) e 48 (G48) horas após a morte. Letras diferentes indicam diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) entre grupos. Adaptado de BERGSTEIN-GALAN et al. (2017b)

Quando os espermatozoides ovinos são recuperados de epidídeos que foram expostos à temperatura ambiente, as amostras congeladas até 24 horas *post mortem* apresentam motilidade e viabilidade pós descongelação similares ao sêmen colhido em vagina artificial. Porém com 48 horas *post mortem* os espermatozoides epididimários apresentam motilidade e viabilidade pós descongelação abaixo de 10%, não sendo indicado seu uso em programas de inseminação artificial (IA) (BERGSTEIN-GALAN et al., 2017b).

KAABI et al. (2003) estudaram o efeito da temperatura (temperatura ambiente e 5°C) e tempo de estocagem (0, 24 ou 48 h) de epidídeos ovinos na qualidade e fertilidade espermática após descongelação. Os mesmos autores relataram diminuição da motilidade total e progressiva após a descongelação a partir de 24 horas quando os epidídeos foram mantidos à temperatura ambiente e a partir de 48 horas quando os epidídeos foram refrigerados a 5°C.

BERGSTEIN-GALAN et al. (2017b) conjecturaram que a exposição dos epidídeos à temperatura ambiente pode alterar o padrão de movimento dos espermatozoides, resultando na diminuição da velocidade de migração destas células no trato reprodutivo feminino. Segundo NICHII et al. (2016), quando os epidídeos são expostos a altas temperaturas antes do congelamento, o potencial mitocondrial diminui significativamente.

A partir desta hipótese BERGSTEIN-GALAN et al. (2017c) identificaram três subpopulações espermáticas com base na cinética de espermatozoides epididimários recuperados até 48 horas *post mortem* e no sêmen coletado em vagina artificial. Com base nas velocidades de trajeto (VAP), progressiva (VSL) e curvilínea (VCL),

na amplitude de deslocamento lateral de cabeça (ALH), na frequência de batimento do flagelo (BCF), na retilinearidade (STR) e na linearidade (LIN), os espermatozoides foram classificados nas três subpopulações: lentos e não lineares, rápidos e não lineares (hiperativados) e rápidos e retilíneos (Tabela 1).

	Lentos e não lineares	Rápidos e não lineares (hiperativados)	Rápidos e retilíneos
VAP	28,5 ± 16,7 c	133,3 ± 39,0 a	93,5 ± 28,5 b
VSL	16,3 ± 11,9 c	94,1 ± 45,6 a	81,5 ± 28,2 b
VCL	70,2 ± 40,1 c	266,0 ± 56,3 a	175,8 ± 47,4 b
ALH	3,9 ± 2,5 c	11,1 ± 3,1 a	6,8 ± 2,0 b
BCF	40,0 ± 17,6 a	34,5 ± 14,6 b	34,1 ± 14,7 b
STR	59,2 ± 24,6 c	69,0 ± 23,1 b	86,7 ± 9,6 a
LIN	27,3 ± 18,9 c	34,5 ± 13,6 b	47,2 ± 12,1 a

Tabela 1. Média ± desvio padrão da VAP ( $\mu\text{M/S}$ ), VSL (M/S), VCL ( $\mu\text{M/S}$ ), ALH ( $\mu\text{M}$ ), BCF (HZ), STR (%) E LIN (%) das subpopulações identificadas na análise multivariada do sêmen ovino colhido em vagina artificial e espermatozoides ovinos recuperados da cauda de epidídimo até 48 horas após a morte. Adaptado de BERGSTEIN-GALAN et al. (2017c)

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os resultados

Como as amostras seminais são compostas por população heterogênea de células espermáticas (BERGSTEIN et al., 2016; GARCÍA-ÁLVAREZ et al., 2010) as análises tradicionais de valores médios de motilidade simplificam demasiadamente a análise da motilidade (CONTRI et al., 2012; MARTINEZ-PASTOR et al., 2005a). Com o uso da análise multivariada é possível estudar variações das subpopulações em diversas etapas do processamento espermático (ABAIGAR et al., 1999; DORADO et al., 2011; GALLEGO et al., 2015)13 for gazelle. Na Figura 4 está demonstrada a porcentagem acumulada das três subpopulações espermáticas identificadas por BERGSTEIN-GALAN et al. (2017c) no sêmen coletado em AV e dos epidídimos até 48 horas após a morte.

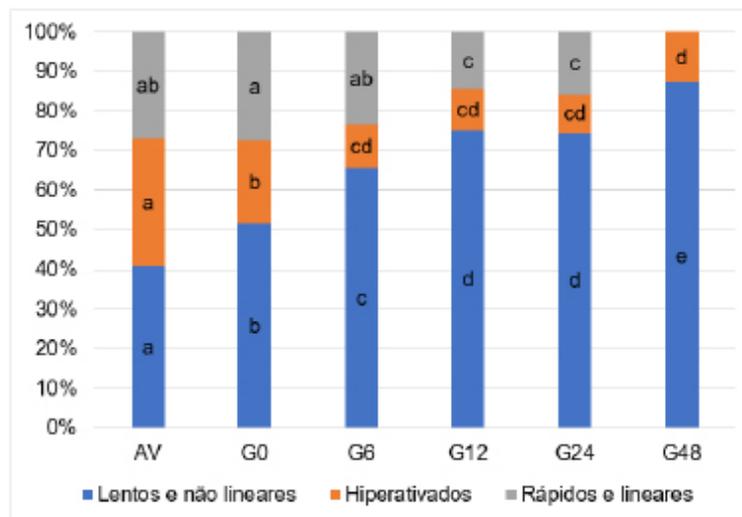


Figura 4. Porcentagem acumulada das três subpopulações espermáticas identificadas após descongelação do sêmen ovino colhido em vagina artificial (AV) e espermatozoides recuperados da cauda de epidídimos mantidos à temperatura ambiente por 0(G0), 6(G6), 12 (G12), 24(G24), 48(G48) horas após a morte. Letras diferentes indicam diferenças significativa ( $P < 0,05$ ) entre grupos. Adaptado de BERGSTEIN-GALAN et al. (2017c)

Os espermatozoides recuperados da cauda de epidídimo são afetados pelo período após a morte, principalmente quando são mantidos à temperatura ambiente. No estudo de BERGSTEIN-GALAN et al. (2017c), foi possível identificar que o padrão de movimento das células espermáticas recuperadas da cauda de epidídimos mantidos à temperatura ambiente é alterado 6 horas após a morte, com o aumento da subpopulação de espermatozoides lentos e não retilíneos em detrimento da subpopulação de espermatozoides hiperativados. Além disso, a subpopulação caracterizada por espermatozoides rápidos e retilíneos diminuiu 12 horas após a morte, coincidindo com o início da degeneração dos tubos epididimários relatada por (SONGSASEN; TONG; LEIBO, 1998). A subpopulação de espermatozoides rápidos e lineares, que correspondem a amostras seminais de boa qualidade (MARTÍNEZ-PASTOR et al., 2011), desapareceu após 48 horas *post mortem*, sendo que a diminuição da subpopulação de espermatozoides rápidos e lineares coincidiu com o aumento considerável da subpopulação de espermatozoides lentos e não lineares (BERGSTEIN-GALAN et al., 2017c). MARTINEZ-PASTOR et al. (2005a) também identificaram decréscimo abrupto da subpopulação caracterizada por espermatozoides com velocidades médias e linearidade alta entre 48 e 72 horas após a morte nos espermatozoides recuperados de epidídimos de cervídeos. Os mesmos autores sugeriram que este é o limite de tempo em que seria possível recuperar espermatozoides do epidídimo. Contudo, quando os espermatozoides forem utilizados em biotécnicas reprodutivas que independam da motilidade (injeção intracitoplasmática) este não é um fator limitante (BERGSTEIN-GALAN et al., 2017c).

## 4 | FERTILIDADE DE ESPERMATOZOIDES EPIDIDIMÁRIOS

A cauda de epidídimo é fonte de espermatozoides viáveis que são capazes de fertilizar oócitos (LONE et al., 2011). A fertilização de oócitos, *in vivo* ou *in vitro*, por espermatozoides colhidos da cauda de epidídimo já foi relatada em ratos (KANEKO et al., 2009; SONGSASEN; TONG; LEIBO, 1998) equinos (MONTEIRO et al., 2011), bovinos (BERTOL et al., 2016; MARTINS et al., 2009), ovinos (ABELLA et al., 2015; ÁLVAREZ et al., 2012; BERGSTEIN-GALAN et al., 2017b; KAABI et al., 2003) suínos (OKAZAKI et al., 2012) e cervídeos (GARDE et al., 1998).

Estudos relatam que a taxa de gestação após inseminação artificial por laparoscopia utilizando espermatozoides recuperados da cauda de epidídimo, em ovinos, é de aproximadamente 50% (ABELLA et al., 2015; ÁLVAREZ et al., 2012; RICKARD et al., 2014). Entretanto, o período após a morte apresenta efeito negativo sobre a taxa de gestação. Segundo Abella et al. (2015), a perda na taxa de gestação por dia de estocagem corresponde a 7% em ovelhas Corridale e 12% em ovelhas Ile de France, quando os espermatozoides foram refrigerados. Todavia quando os espermatozoides epididimários ovinos são recuperados até 24 horas *post mortem* não há diferença, comparado ao sêmen colhido em vagina artificial, na taxa de gestação após IA por laparoscopia (ÁLVAREZ et al., 2012; BERGSTEIN-GALAN et al., 2017b; KAABI et al., 2003).

Na fertilização *in vitro*, Kaabi et al. (2003) relataram diminuição ( $P < 0,05$ ) da taxa de clivagem de oócitos fertilizados por espermatozoides recuperados da cauda de epidídimo de ovinos 48 horas após a morte (38%<sup>b</sup>), quando comparada a amostras recém coletadas dos epidídimos (53%<sup>a</sup>) e ao sêmen colhido em vagina artificial (50%<sup>a</sup>).

## 5 | CONCLUSÃO

Em conclusão é possível recuperar espermatozoides ovinos congeláveis, sem prejuízo a viabilidade e fertilidade, até 24 horas após a morte quando os epidídimos são mantidos a temperatura ambiente.

## REFERÊNCIAS

ABAIGAR, T. et al. Sperm subpopulations in boar (*Sus scrofa*) and gazelle (*Gazella dama mhorr*) semen as revealed by pattern analysis of computer-assisted motility assessments. **Biology of reproduction**, v. 60, n. 1, p. 32–41, 1999.

ABELLA, D. F. et al. Fertility of undiluted ram epididymal spermatozoa stored for several days at 4 ° C. **Animal**, v. 9, n. 2, p. 313–319, 2015.

ÁLVAREZ, M. et al. Specificity of the extender used for freezing ram sperm depends of the spermatozoa source (ejaculate, electroejaculate or epididymis). **Animal reproduction science**, v. 132, n. 3–4, p. 145–154, jun. 2012.

- BERGSTEIN-GALAN, T. G. et al. Espermatozoides epididimários : refrigeração e criopreservação. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 41, n. 3, p. 659–664, 2017a.
- BERGSTEIN-GALAN, T. G. et al. Quality and fertility of frozen ovine spermatozoa from epididymides stored at room temperature (18e25 ?C) for up to 48 h post mortem. **Theriogenology**, v. 96, p. 69–75, 2017b.
- BERGSTEIN-GALAN, T. G. et al. Sperm subpopulations in ejaculated sperm and spermatozoa recovered from ovine epididymides up to 48 h after death. **Animal Reproduction Science**, v. 187, p. 20–27, 1 dez. 2017c.
- BERGSTEIN-GALAN, T. G. et al. Viability of ovine spermatozoa collected from epididymides stored at 18°-25°C for 48 hours post mortem. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia**, v. 70, n. 4, p. 1023–1028, 2018a.
- BERGSTEIN-GALAN, T. G. et al. Artificial Insemination and Embryo Transfer in Small Ruminants. In: BERGSTEIN-GALAN, T. G. (Ed.). . **Reproduction Biotechnology in Farm Animals**. 1. ed. [s.l.] Avid Science, 2018b. p. 181–199.
- BERGSTEIN, T. G. et al. Kinematic and spermatic recovery after selection by centrifugation in colloid solutions of ovine cryopreserved semen . **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia**, v. 68, n. 6, p. 1539–1547, 2016.
- BERTOL, M. A. F. et al. Viability of bull spermatozoa collected from the epididymis stored at 18-20 ° C. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 56, n. 5, p. 777–783, 2013.
- BERTOL, M. A. F. et al. In vitro and in vivo fertilization potential of cryopreserved spermatozoa from bull epididymides stored for up to 30 hours at ambient temperature (18 °C–20 °C). **Theriogenology**, v. 86, n. 4, p. 1014–1021, 2016.
- CONTRI, A. et al. Artificial neural networks for the definition of kinetic subpopulations in electroejaculated and epididymal spermatozoa in the domestic cat. **Reproduction**, v. 144, n. 3, p. 339–347, 2012.
- DORADO, J. et al. Changes in the structures of motile sperm subpopulations in dog spermatozoa after both cryopreservation and centrifugation on PureSperm® gradient. **Animal Reproduction Science**, v. 125, n. 1–4, p. 211–218, 2011.
- GALLEGO, V. et al. Subpopulation pattern of eel spermatozoa is affected by post-activation time, hormonal treatment and the thermal regimen. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 27, n. 3, p. 529, 2015.
- GARCÍA-ÁLVAREZ, O. et al. Sperm characteristics and in vitro fertilization ability of thawed spermatozoa from Black Manchega ram: Electroejaculation and postmortem collection. **Theriogenology**, v. 72, n. 2, p. 160–168, 15 jul. 2009.
- GARCÍA-ÁLVAREZ, O. et al. Analysis of selected sperm by density gradient centrifugation might aid in the estimation of in vivo fertility of thawed ram spermatozoa. **Theriogenology**, v. 74, n. 6, p. 979–988, 2010.
- GARDE, J. et al. Criopreservación postmortem de material espermático e inseminación artificial en el ciervo ibérico. **Arch. Zootec**, v. 47, n. 189, p. 351–356, 1998.
- JONES, R. Sperm survival versus degradation in the mammalian epididymis: A hypothesis. **Biology of reproduction**, v. 75, p. 1405–1411, 2004.
- KAABI, M. et al. Effect of epididymis handling conditions on the quality of ram spermatozoa recovered post-mortem. **Theriogenology**, v. 60, p. 1249–1259, 2003.

- KANEKO, T. et al. Fertilization of C57BL/6 mouse sperm collected from cauda epididymides after preservation or transportation at 4°C using laser-microdissected oocytes. **Cryobiology**, v. 59, n. 1, p. 59–62, 2009.
- LONE, F. A. et al. Effect of transportation temperature on the quality of cauda epididymal spermatozoa of ram. **Animal reproduction science**, v. 123, n. 1–2, p. 54–59, jan. 2011.
- MARTINEZ-PASTOR, F. et al. Sperm Subpopulations in Iberian Red Deer Epididymal Sperm and Their Changes Through the Cryopreservation Process. **Biology of Reproduction**, v. 72, n. 2, p. 316–327, 2005a.
- MARTINEZ-PASTOR, F. et al. Decay of sperm obtained from epididymes of wild ruminants depending on postmortem time. **Theriogenology**, v. 63, n. 1, p. 24–40, 1 jan. 2005b.
- MARTINEZ-PASTOR, F. et al. Comparison of two methods for obtaining spermatozoa from the cauda epididymis of Iberian red deer. **Theriogenology**, v. 65, n. 3, p. 471–485, 2006.
- MARTÍNEZ-PASTOR, F. et al. Statistical Series: Opportunities and challenges of sperm motility subpopulation analysis. **Theriogenology**, v. 75, n. 5, p. 783–795, 2011.
- MARTINS, C. F. et al. Recovery, cryopreservation and fertilization potential of bovine spermatozoa obtained from epididymides stored at 5°C by different periods of time. **Animal Reproduction Science**, v. 116, n. 1, p. 50–57, 2009.
- MONTEIRO, G. A. et al. Cryopreservation and fertility of ejaculated and epididymal stallion sperm. **Animal Reproduction Science**, v. 127, n. 3–4, p. 197–201, 2011.
- MONTEIRO, G. A. et al. Effect of Storage Time and Temperature of Equine Epididymis on the Viability, Motion Parameters, and Freezability of Epididymal Sperm. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 33, n. 3, p. 169–173, 2013.
- NICHI, M. et al. Evaluation of epididymis storage temperature and cryopreservation conditions for improved mitochondrial membrane potential, membrane integrity, sperm motility and in vitro fertilization in bovine epididymal sperm. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 52, n. 2, p. 257–263, 2016.
- OKAZAKI, T. et al. Artificial Insemination With Seminal Plasma Improves the Reproductive Performance of Frozen-Thawed Boar Epididymal Spermatozoa. **Journal of Andrology**, v. 33, n. 5, p. 990–998, 2012.
- RICKARD, J. P. et al. Seminal plasma aids the survival and cervical transit of epididymal ram spermatozoa. **Reproduction**, v. 148, n. 5, p. 469–478, 2014.
- SALAMON, S.; MAXWELL, W. M. C. Storage of ram semen. **Animal Reproduction Science**, v. 62, n. 1–3, p. 77–111, 2000.
- SONGSASEN, N.; TONG, J.; LEIBO, S. Birth of live mice derived by in vitro fertilization with spermatozoa retrieved up to twenty-four hours after death. **J Exp Zool**, v. 280, n. 2, p. 189–196, 1998.
- TAMAYO-CANUL, J. et al. Undiluted or extended storage of ram epididymal spermatozoa as alternatives to refrigerating the whole epididymes. **Animal reproduction science**, v. 126, n. 1–2, p. 76–82, jun. 2011.
- TITTARELLI, C. et al. Effect of storage media and storage time on survival of spermatozoa recovered from canine and feline epididymides. **Theriogenology**, v. 66, n. 6–7, p. 1637–1640, out. 2006.
- WEISS, R. R. et al. Freezing sperm from cauda epididymis of castrated stallions. **Animal Reproduction Science**, v. 107, n. 3–4, p. 356, 2008.

## **SOBRE A ORGANIZADORA**

**VALESKA REGINA REQUE RUIZ** - Médica Veterinária formada pela Pontifícia Universidade Católica do Paraná (2004), mestre em Medicina Veterinária pelo Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista (2005). Atua como professora no CESCAGE desde janeiro de 2011. Tem experiência na área de Medicina Veterinária, com ênfase em Histologia e Fisiologia Animal.

## ÍNDICE REMISSIVO

### A

Antioxidante 11, 12, 14, 16, 25

Apicultura 2, 3, 9

Avicultura 13, 21, 22, 23, 24, 29, 39, 42

### B

Bezerros 49, 50, 52

Bovinocultura 49, 50

### C

Caninos 79, 80

Caprinocultura 62

Ciência 1, 8, 10, 16, 21, 29, 30, 36, 37, 42, 52, 61, 68, 83, 89, 124, 145, 150, 155

Clínica 31, 33, 56, 89, 91, 92, 93, 94, 95, 100, 155

Conhecimento 2, 3, 5, 32, 43, 47, 71, 88, 115, 116, 119, 147

### D

Desconforto térmico 62

### E

Espermatozoides 16, 53, 55, 56, 57, 58, 59, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143

Estudo 9, 23, 29, 31, 33, 34, 38, 41, 43, 44, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 82, 84, 86, 87, 91, 93, 94, 95, 98, 101, 102, 105, 112, 116, 117, 119, 121, 130, 138, 141, 147, 148, 150, 152, 157, 162, 163

### F

Fisiologia Animal 166

### I

Imunoestimulante 11

### L

Leite 16, 19, 43, 50, 66, 79, 80, 82, 83, 92, 93, 96, 99, 100, 102, 103, 104, 155

### M

Mastite 91, 92, 93, 94, 95, 96, 99, 100

Medicina Veterinária 18, 30, 36, 38, 40, 48, 68, 84, 86, 89, 96, 97, 106, 107, 131, 133, 135, 155, 166

## **N**

Nutrição 11, 14, 17, 21, 28, 37, 79, 82, 83, 102, 104, 126, 129

## **O**

Observação 33, 99

## **P**

Pesquisa 9, 19, 32, 41, 48, 50, 52, 67, 79, 80, 82, 93, 104, 105, 127, 131, 132, 145, 149, 150, 152, 163, 164

Piscicultura 145, 146, 147, 149, 150, 151, 153, 154

## **Z**

Zootecnia 1, 17, 18, 19, 29, 30, 43, 44, 45, 47, 48, 52, 68, 89, 90, 96, 106, 107, 113, 131, 132, 133, 135, 143

Agência Brasileira do ISBN  
ISBN 978-85-7247-626-3

