

Efeito de dietas simplificadas sobre características seminais de coelhos

Effect of simplified diets on semen characteristics in rabbits

Efecto de dietas simplificadas sobre las características del semen en conejo

Carlos Eugênio Ávila de Oliveira¹, Walter Motta Ferreira², Felipe Norberto Alves Ferreira³, Camila Campos Gondim Martins Coelho⁴, Fábio Moraes Hosken³, Tânia Mota Gonçalves³

¹Doutor em Zootecnia pela EV-UFMG – E-mail: ceaovet@yahoo.com.br

²Professor Titular do Departamento de Zootecnia da EV-UFMG

³Alunos de mestrado em Zootecnia da EV-UFMG

⁴Aluna de doutorado em Zootecnia da EV-UFMG

RESUMO

Dois ensaios foram conduzidos com o objetivo de avaliar a qualidade seminal de coelhos alimentados com dietas simplificadas à base de forragens. Foram utilizados 33 coelhos com 7 a 8 meses de idade distribuídos em um delineamento inteiramente casualizados com três tratamentos e 11 repetições. Foram utilizadas uma dieta referência e duas dietas simplificadas (uma contendo feno de alfafa e outra contendo feno do terço superior da rama de mandioca). Os resultados para volume, vigor e concentração foram, respectivamente, 0,56 mL, 3,14 e $194,82 \times 10^6$ espermatozoides / mL, para os animais alimentados com dieta de feno de alfafa. Para coelhos alimentados com dieta com rama de mandioca, os resultados para volume, vigor e

concentração foram 0,34 mL, 2,27 e $142,94 \times 10^6$ espermatozoides / mL, respectivamente. Não houve diferenças estatísticas entre os tratamentos para aspectos relacionados à morfologia espermática. Os animais que consumiram dieta à base de feno de mandioca apresentaram uma qualidade de sêmen inferior quando comparados com os animais da dieta referência e da dieta à base de feno de alfafa.

Palavras-chave: anormalidades do espermatozoide, feno de alfafa, feno de mandioca, qualidade do sêmen

ABSTRACT

Two assays were carried out to evaluate the use of simplified diets the based on forages for semen quality of rabbits. Thirty-three New Zealand rabbits with 7-8

months old were used and distributed in a randomized design with three treatments and 11 replicates. Three diets were used: a reference diet and two simplified diets (one containing alfalfa hay and other with upper third part of foliage cassava hay). The results for volume, vigor and concentration were, respectively, 0,56 mL, 3,14 e $194,82 \times 10^6$ spermatozoa / mL for the animal fed with alfalfa hay. The results for rabbits fed with diet with upper third part of foliage cassava hay were 0,34 mL, 2,27 e $142,94 \times 10^6$ spermatozoa / mL, for volume, vigor and concentration, respectively. It didn't have statistical differences between the treatments for aspects related to the spermatozoa morphology. The animals that had consumed upper third part of foliage cassava hay diet had presented inferior quality of semen when compared with the animals of the diet reference and the diet with the alfalfa hay base.

Key words: spermatozoa morphology, alfalfa hay, cassava hay, semen quality

RESUMEN

Se realizaron dos experimentos para evaluar la calidad del semen de conejos alimentados con dietas basadas en forrajes simplificados. Hemos utilizado 33 conejos a los 7-8 meses de edad, distribuidos en un diseño completamente al azar con tres

tratamientos y 11 repeticiones. Se utilizó una dieta de referencia y dos dietas simplificadas (con heno de alfalfa y heno de otro tipo que contenga el tercio superior del follaje de yuca). Los resultados para el volumen, la resistencia y la concentración fueron, respectivamente, 0,56 ml, 3,14 y $194,82 \times 10^6$ espermatozoides / ml para los animales alimentados con una dieta de heno de alfalfa. En conejos alimentados con una dieta que contenía follaje de yuca, los resultados para el volumen, el vigor y la concentración eran 0,34 ml, 2,27 y $142,94 \times 10^6$ espermatozoides / ml, respectivamente. No hubo diferencias estadísticas entre los tratamientos para los aspectos relacionados con la morfología. Los animales que consumieron una dieta basada en heno de yuca tienen una menor calidad seminal en comparación con los animales de la dieta de referencia y la dieta de heno de alfalfa.

Palabras clave: anomalías del esperma, heno de alfalfa, heno de yuca, la calidad del semen

INTRODUÇÃO

A qualidade dos alimentos utilizados na formulação de dietas para coelhos e o balanceamento adequado dos nutrientes dietéticos, respeitando-se as exigências nutricionais mínimas sugeridas para esta espécie, são fatores primordiais

para que se obtenha sucesso na produção destes animais. no seu processo de produção.

No manejo de rotina em granjas cunícolas, observa-se a utilização de dietas elaboradas para matrizes e/ou animais em crescimento, fornecidas a coelhos machos reprodutores, em quantidades restritas com intuito de controlar o seu peso corporal (De Blas, 1984).

Dietas balanceadas, com níveis adequados de proteína, sais minerais, vitaminas e outros princípios nutritivos, permitem que coelhos, machos e fêmeas, estejam mais aptos à reprodução (Vieira, 1974). Além disso, na fase de crescimento, os coelhos apresentam exigências variáveis, sendo sugerida a elaboração de diferentes dietas até a idade reprodutiva que, na raça Nova Zelândia Branco, ocorre aos cinco meses de idade, aproximadamente (Casanova et al., 1985).

A elaboração de uma dieta específica para machos selecionados à reprodução deve atender adequadamente suas necessidades nutritivas tanto durante o crescimento quanto durante sua vida reprodutiva; evitar, se possível, o sobrepeso dos animais; aumentar a longevidade dos machos (maior tempo de vida produtiva) e, por fim, melhorar a qualidade e quantidade de sêmen produzido (Pascual, 2003).

Nos últimos anos, a tecnologia das dietas simplificadas para coelhos, que consiste na elaboração de dietas com grande quantidade de forragem, vem sendo testada como opção para redução nos custos de produção. Há a necessidade de adição e balanceamento adequado de alguns princípios nutritivos, como minerais, aminoácidos e vitaminas para a elaboração, economicamente viável, das dietas simplificadas.

Assim, este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o perfil andrológico de machos que consumiram dietas simplificadas desde o desmame até o início da idade reprodutiva.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 33 coelhos machos da raça Nova Zelândia Branco, com idade entre 7 e 8 meses. Após o desmame, os coelhos foram distribuídos em gaiolas de arame galvanizado (40 cm X 60 cm X 45 cm), providas de bebedouros automáticos e comedouros semi-automáticos. O delineamento foi inteiramente casualizados com três tratamentos, sendo uma dieta referência (DR), uma dieta a base de feno de alfafa (DA) e uma dieta à base e feno da rama de mandioca (DM) (Tabela 1) e 11 repetições. As dietas foram fornecidas à vontade desde

o desmame dos animais até o final do experimento.

Tabela 1 – Composição percentual e analisada com base na matéria seca das dietas experimentais

Ingredientes	Unidade	Dieta Referência	Dieta Alfafa	Dieta Mandioca
Milho	Kg	24,06	---	---
Farelo de Soja	Kg	14,00	---	---
Farelo de Trigo	Kg	22,00	---	---
Feno de Alfafa	Kg	22,00	87,36	---
Feno de Tifton 85	Kg	16,05	---	---
Feno de Mandioca	Kg	---	---	87,71
Melaço em Pó	Kg	---	2,00	2,00
Fosfato Bicálcico	Kg	0,10	1,96	1,96
Calcário	Kg	0,65	---	---
Sal Comum	Kg	0,43	0,43	0,43
DL Metionina	Kg	0,08	0,37	0,42
Lisina HCl	Kg	0,06	1,06	0,49
Treonina	Kg	---	0,25	0,42
Mist. Vit+Min ¹	Kg	0,50	0,50	0,50
Óleo de Soja	Kg	---	5,00	5,00
BHT	Kg	0,01	0,01	0,01
Bentonita	Kg	---	1,00	1,00
Cycostat	Kg	0,06	0,06	0,06
TOTAL		100	100	100
Matéria Seca ²	%	89,90	91,52	92,49
Proteína Bruta ²	%	17,55	17,55	18,46
FDA ²	%	15,44	22,44	30,11
FDN ²	%	30,80	31,52	42,18
Cálcio ³	%	0,80	1,40	2,00
Fósforo ³	%	0,52	0,60	0,60
Met+Cys ³	%	0,60	0,60	0,60
Lisina ³	%	0,80	0,84	0,84
Treonina ³	%	0,70	0,70	0,70
Energia Bruta ²	Kcal/Kg	3600	4085	4496

1- Composição da mistura vitamínico-mineral por kg do produto: Vit A, 600.000 UI; Vit D, 100.000 UI; Vit E, 8.000mg; Vit K3, 200mg; Vit B1, 400mg; Vit B2, 600mg; Vit B6, 200mg; Vit B12, 2.000mcg; Ac. Pantotênico, 2.000mg; Colina, 70.000mg; Ferra, 8.000mg; Cobre, 1.200mg; Cobalto, 200mg; Manganês, 8.600mg; Zinco, 12.000mg; Iodo, 64mg; Selênio, 16mg; Metionina, 120.000mg; Antioxidante, 20.000mg.

2- Valores analisados

3- De acordo com a composição dos alimentos.

As colheitas de sêmen foram realizadas duas vezes por semana, durante quatro semanas, totalizando oito colheitas por animal. Foram utilizadas vaginas artificiais para as colheitas, sendo estas constituídas de um tubo plástico com 4 cm de diâmetro e 8 cm de comprimento

(Scapinello, et al., 1997) e revestidas de preservativo não-lubrificado. Na extremidade oposta à penetração, foi acoplado um tubo de ensaio graduado para a colheita do sêmen. A temperatura da água utilizada na vagina artificial era de 44° C e, para estimular a monta do coelho

no momento das colheitas, foi utilizada uma fêmea como manequim.

Imediatamente após as colheitas, foram determinados os volumes de cada amostra, sem gel. Quando havia a presença de gel, este era retirado do tubo de ensaio por meio de uma alça de arame aquecida a 37° C.

O aspecto do sêmen foi classificado de acordo com escore de quatro pontos, sendo: branco cremoso = 1; branco leitoso = 2; branco aquoso = 3 e aquoso = 4 (Mataveli, 2008). O branco cremoso foi classificado como melhor aspecto e o aquoso como o pior aspecto.

Uma gota de cada ejaculado sem gel foi diluída em cinco gotas de citrato de sódio a 3% e pH 7, em uma lamina pré-aquecida a 37° C, sobre uma placa aquecedora. No microscópio de contraste de fase da marca Olympus CBB (400 X), foi avaliada a motilidade progressiva (%) e o vigor (escala de zero a cinco entre os valores mínimos e máximos observados) (Manual..., 1998).

Uma alíquota de cada ejaculado, numa diluição de 1:100 em formol salina tamponada (Hancock, 1957), foi preparada para posterior avaliação da concentração espermática. A concentração foi calculada para cada amostra, utilizando-se a Câmara de Neubauer, em que foram contados cinco quadrados maiores da referida câmara, por

ejaculado em microscópio contraste de fase da marca Olympus CBB (400 X). A fórmula para o cálculo da concentração foi (Williams, 1920):

$$\text{N}^\circ \text{ de espermatozoides/ml} = A \times 1000 / (1/B \times N/25 \times (1/10)) \text{ onde:}$$

A = número de espermatozoides contados;

B = fator de diluição (1:100);

N = número de quadrados maiores contados;

1/10 = altura da câmara.

Foram feitos dois esfregaços de cada ejaculado de sêmen e corados pelo método de Williams (1920), modificado por Lagerlof (1934) e, depois de secos, foram avaliados em microscópio de contraste de fase da marca Olympus CBB (400 X). A avaliação da morfologia dos espermatozoides foi feita pela observação e classificação de 100 espermatozoides de cada ejaculado e de cada colheita, sendo, estes, classificados em normais, com anormalidades maiores e com anormalidades menores (Blom, 1973), e os resultados foram apresentados em porcentagem. Os espermatozoides com cauda dobrada, cauda solta e cabeça solta foram classificados como contendo anormalidades menores. Já os

espermatozoides observados com cauda quebrada, cauda enrolada, cauda degenerada e microcefalia foram classificados como contendo anormalidades maiores.

Quanto às análises estatísticas, todas as variáveis quantitativas foram testadas para avaliar a homocedasticidade e a normalidade dos valores pelos testes de Lilliefors (1967). As variáveis que apresentaram normalidade ou homocedasticidade tiveram suas médias avaliadas pelo teste de “t” de Student, as variáveis que não apresentaram homocedasticidade, tiveram suas medianas avaliadas pelo teste de Kruskal e Wallis (1952). Tabelas de distribuição de frequências foram avaliadas pelo teste de Qui-quadrado. Todos os dados foram

avaliados no programa de uso livre BioEstat 3.0 (Ayres, 2003) e todas as análises foram determinadas considerando a probabilidade de $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nas análises de cor e de vigor nos diferentes tratamentos estão apresentados na Tabela 2. A cor, que está relacionada ao aspecto do sêmen, não foi influenciada pelos tratamentos. Entretanto, os valores atribuídos ao vigor variaram ($p < 0,05$) em função dos tratamentos, sendo que os animais que consumiram dieta com rama de mandioca apresentaram vigor inferior aos animais que consumiram a dieta referência e a dieta contendo alfafa.

Tabela 2 – Peso animal e características de sêmen de coelhos de 7-8 meses de idade com diferentes dietas

Variáveis	Tratamentos			CV (%)
	Dieta Referência	Dieta Alfafa	Dieta Mandioca	
Peso animal (g)	3636 ^a	3332 ^b	3036 ^c	8,62
Cor	1,38	1,57	1,57	50,41
Volume (mL)	0,55 ^a	0,56 ^a	0,34 ^b	101,58
Vigor	2,98 ^a	3,14 ^a	2,27 ^b	62,68
Motilidade (%)	40,85	43,10	35,43	74,80
pH	7,52	7,62	7,51	5,58
CE ($\times 10^6$ /mL) ¹	248,94 ^a	194,82 ^{a,b}	142,94 ^b	85,43

¹Concentração espermática.

Médias com letras diferentes no sentido de linha diferem ($P < 0,05$) pelo teste Kruskal-Wallis

Os parâmetros qualitativos do sêmen são importantes porque podem ser usados como indicadores de qualidade seminal para coelhos (Lavara et al., 2005).

Avaliando coelhos entre seis e doze meses, Macedo et al., (1982) demonstraram que o escore 4 para vigor apresentou a maior frequência relativa (53,95%). Andrezzi et

al., (2004) trabalharam com coelhos consumindo dietas com diferentes fontes de óleos vegetais e avaliaram a qualidade seminal dos mesmos a partir dos sete meses de idade encontrando para a cor, o valor médio de 1,56 pontos e para vigor 2,74 pontos. Um sêmen de coelho que apresentar vigor ≥ 3 pontos pode ser considerado bom (Alvariño, 1998), sendo este valor superior aos obtidos no presente ensaio para os animais que consumiram dieta com mandioca. Scapinello et al., (1997) encontraram valores de 2,40 para vigor de coelhos Nova Zelândia Branco, durante o verão. Já Costa et al., (2002) observaram vigor espermático de 3,68 em sêmen de coelhos Califórnia. Estes valores reforçam a ideia de queda na qualidade do sêmen em períodos de temperatura elevada.

Alvariño (2000) sugeriu que o pH é um bom indicador da qualidade do sêmen e que sua variação deve ser de 6,8 a 8,4, se medidos logo após a colheita. Os valores de pH obtidos não diferiram ($P > 0,05$) entre os tratamentos e encontraram-se neste intervalo. Scapinello et al., (1997), Andreazzi et al., (2004) e Mataveli (2008) que trabalharam com coelhos nas mesmas condições de temperatura e ambiente encontraram valores semelhantes de pH.

Os dados encontrados para motilidade progressiva foram muito variados, mas Martin (1993) reportou que a motilidade no sêmen fresco de coelhos pode variar de 40% a 95%. Mesmo não havendo diferença entre os tratamentos ($p > 0,05$), os valores encontrados foram relativamente baixos. Alvariño (1998) consideraram como boa motilidade espermática progressiva para coelhos valores acima de 60%. A capacidade de motilidade espermática é acentuada à medida que a morfologia e a função metabólica dos espermatozoides amadurecem (Hafez e Hafez, 2000). Este amadurecimento está relacionado a vários fatores, tais como tempo de permanência dos espermatozoides no epidídimo, intervalo de colheitas, disponibilidade de energia, pH e temperatura. Considerando o ritmo de colheita do experimento e as dietas formuladas de modo a atender as exigências nutricionais dos animais, os baixos valores encontrados parecem estar relacionados à temperatura, uma vez que o experimento foi conduzido durante o período de verão. Alvariño (2000) relatou que temperaturas ambientes superiores a 27° C, para coelhos reprodutores, afetam a fertilidade, pois diminuem a motilidade progressiva e a libido.

O volume espermático foi menor ($P < 0,05$) nos animais que consumiram

dieta com mandioca (tabela 2). Os valores encontrados foram muito variados, não só entre os animais dos diferentes tratamentos, como também entre os animais do mesmo tratamento. Esta grande variação quanto ao volume do ejaculado se deve a fatores como idade, raça, estação do ano e alimentação, além do fator individual ligado a cada animal. Alvariño (2000) afirmou que o volume varia de 0,3 mL até 6,0 mL. Já Scapinello et al., (1997) encontraram valores que variaram de 0,67 mL a 1,13 mL e Costa et al., (2002), ao trabalharem com coelhos da raça Califórnia, encontraram um volume médio de 0,57 mL. Os resultados encontrados sugerem que o fato de os animais do experimento serem padronizados quanto à raça e idade, estando sujeitos às mesmas condições de exploração, parecem ser influenciados por fatores antinutricionais presentes na dieta.

As concentrações espermáticas também foram menores ($p < 0,05$) nos animais que consumiram a dieta com mandioca comparado com os valores obtidos com a dieta referência (tabela 2). Ell-Ezz et al. (1985) mencionaram que há uma correlação positiva entre peso corporal e a concentração espermática em coelhos, corroborando os resultados obtidos.

Os valores de concentração espermática variam consideravelmente segundo a raça, indivíduo e ritmo de colheita, oscilando entre 50×10^6 a 1500×10^6 espermatozoides / mL (Alvariño, 1998). Bódnar et al. (1996) trabalharam com coelhos da raça Pannon White e realizaram colheitas a cada três dias, durante um mês. Os autores obtiveram volumes médios de ejaculado de 0,79 mL, motilidade variando de 60% a 80% e concentração de 286×10^6 espermatozoides / mL.

Battaglini et al., (1992) trabalharam com coelhos Nova Zelândia Branco durante seis meses e os resultados eram muito variáveis em relação aos volumes (de 0,31 a 1,15 mL), à motilidade (de 55% a 90%), ao pH (de 6,71 a 8,42) e às concentrações espermáticas (de 280×10^6 a 1049×10^6 / mL). Cheeke (1987) já havia afirmado que a produção espermática em coelhos é altamente variável, bem como em sucessivos ejaculados do mesmo animal.

Os dados relativos à concentração espermática obtidos neste trabalho apresentaram valores inferiores aos outros trabalhos mencionados, porém há de se considerar a idade dos animais e a temperatura ambiente durante o período de colheita que, como mencionado, foi durante o verão.

As dietas utilizadas não afetaram os resultados encontrados para espermatozoides normais, anormais e anormalidades maiores e menores dos animais envolvidos no experimento ($p>0,05$) (tabela 3), podendo também se

notar o alto valor encontrado para as anormalidades. Segundo Hafez e Hafez (2000), anormalidades espermáticas de até 20% não prejudicam a fertilidade.

Tabela 3 – Morfologia dos espermatozoides dos coelhos, nos diferentes tratamentos

Morfologia	Tratamentos			
	Dieta Referência	Dieta Alfafa	Dieta Mandioca	CV (%)
Espermatozoides (%)				
Normais ²	69,91	69,57	71,80	10,81
Anormais ²	30,10	30,43	28,21	41,67
Anorm. Maiores ¹	7,59	7,52	5,81	27,31
Anorm. Menores ²	22,51	22,91	22,40	60,97

Bilbao (1996) reportou valores de até 25% para espermatozoides anormais. Trabalhando com coelhos de nove meses de idade, Morera et al., (1999) encontraram 18% de anormalidades totais, sendo 3% de anormalidades de cabeça e 15% de cauda. Destas houve maior predominância de cauda enrolada (10%), cauda dobrada (4%) e gotas citoplasmáticas (1%). Alvariño (2000) sugeriu o fator raça como variante dos índices de anormalidades espermáticas, sugerindo uma média de 11% de anormalidades para coelhos reprodutores da raça Nova Zelândia Branco.

O estresse calórico é o fator ambiental que mais afeta a qualidade do sêmen (Hafez e Hafez, 2000). Estes pesquisadores trabalharam com carneiros e constataram que a permanência dos animais em ambiente a 40°C por 2 horas,

causou aumento no número de espermatozoides sem cauda e com acrossoma inchado, vesiculado e desintegrado, até duas semanas após o estresse. Os mesmos pesquisadores contataram problemas semelhantes em suínos submetidos a aumento de temperatura ambiente por 90 dias. El-Marsy et al., (1995) contataram aumento em espermatozoides anormais em coelhos Nova Zelândia Branco, submetidos à temperaturas acima de 35° C.

Foi realizado um teste de independência pelo Qui-quadrado entre os tratamentos e tendo como variáveis o número de colheitas possíveis e o número de animais que apresentaram dificuldades na colheita (tabela 4). O ensaio contou com 11 repetições em cada tratamento e oito colheitas por repetição, sendo possível a

realização máxima de 88 colheitas por tratamento. A classificação de “animais problema” coube àqueles animais que apresentaram dificuldades nas colheitas

(em uma ou mais colheitas), não sendo possível a realização da mesma naquele dia.

Tabela 4 – Colheitas de sêmen possíveis durante o experimento e o número de animais que as realizaram

Colheitas	Tratamentos		
	Dieta Referência	Dieta Alfafa	Dieta Mandioca
Número colheitas possíveis	88	88	88
Número colheitas realizadas	85	85	71
“Animais problema”	1	3	7

Teste de Qui-quadrado significativo ($P < 0,05$) na associação das variáveis com as dietas.

Os resultados demonstraram que houve associação entre os tratamentos e as variáveis indicando que o número inferior de colheitas nos animais que consumiram dieta à base de feno de mandioca é influenciado pela dieta.

Os resultados obtidos apresentaram-se ligeiramente inferiores aos encontrados em outros trabalhos, principalmente nas variáveis relativas à motilidade, vigor e concentração. Isto pode ter ocorrido como reflexo de fatores como idade dos animais e/ou às temperaturas elevadas durante o experimento. Miros et al. (1993) constataram que os testículos dos coelhos crescem até oito meses de idade, aproximadamente, com estabilização e maturidade sexual estabelecidas a partir desta idade e Oliveira (1999) afirmou que dentre os fatores ambientais, a temperatura é a que afeta mais diretamente os coelhos,

visto que a capacidade de dissipação de calor do coelho para o meio ambiente é inferior, se comparada a outras espécies.

São poucos os trabalhos realizados com objetivo de se analisar a influência da dieta sobre as características seminais de coelhos, porém Luzi et al. (1996) afirmaram que a libido e o volume do ejaculado são influenciados pelo nível alimentar dos animais.

CONCLUSÃO

Dietas simplificadas à base de feno de alfafa podem ser utilizadas na preparação ou criação de animais reprodutores machos, sem prejuízo ao desempenho reprodutivo. No entanto, a rama da mandioca, deve ser evitada na dieta de coelhos reprodutores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVARIÑO, J. R. M. Inseminación artificial como base de la cunicultura industrial. Leon: Overejo, 1998. 78 p.

ALVARIÑO, J. R. M. Reproductive performace of male rabbits. In: WORLD CONGRESS OF ANIMAL FEEDING, 7., 2000, Valencia. **Proceedings...** Valencia: ACAF, 2000, p. 13-35.

ANDREAZZI, M. A. Avaliação reprodutiva de matrizes e coelhos reprodutores alimentados com ração contendo diferentes fontes de óleos vegetais. 2002. 47f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR.

ANDREAZZI, M. A.; SCAPINELLO, C.; MORAES, G. V. *et al.* Avaliação da qualidade do sêmen em coelhos alimentados com ração contendo diferentes fontes de óleos vegetais. **Acta Sci. Anim.**, v.26, n.1, p. 87-93, 2004.

AYRES, M. BioEstat 3.0: aplicações estatísticas nas áreas de ciências biológicas e médicas. Manaus: Sociedade Civil Mamirauá; Brasília: MCT/CNPq, 2003. 291p.

BATTAGLINI, M.; CASTELLINI, C.; LATTAJOLI, P. Variability of the main

characteristics of rabbit sêmen. **J. Appl. Rabb. Res.**, v.15, pt.A, p. 439-446, 1992.

BILBAO, M. M. Manejo em inseminación artificial: factores que afectan a la calidade seminal y al índice de fertilidad. In: SIMPOSIO CUNICULTURA, 21., 1996, Amposta. **Proceedings...** Amposta: ASESCU, 1996. p.1-9.

BLOM, E. The ultrastructure of some characteristic sperm defects and a proposal for a new classification of the Bull espermogram. **Nord. Veterinaermed.**, v.25, n.77/78, p. 383-391, 1973.

BODNÁR, K.; TOROK, I.; HEJEL, P. et al. Preliminary study on the effect of ejaculation frequency on some characteristics of rabbit semen. In: WORLD CONGRESS OF ANIMAL FEEDING, 6., 1996, Tolouse. **Proceedings...**Tolouse: ACAF, 1996. p. 41-44.

CASANOVA, T. R.; LOBET, J. A. C.; RABADA, J. C. **Tratado de cunicultura.** Barcelona: Tecnograf. S. A., 1985., V.2, 781 p.

CHEEKE, P. R. **Rabbit feeding and nutrition.** Orlando: Academic Press, 1987. 380p.

COSTA, L. C.; MURGAS, L. D.; MILIORINI, A. B. *et al.* Influência do selênio sobre a qualidade do sêmen de coelhos da raça Califórnia. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v.26, n.2, p. 117-118, 2002.

DE BLAS, C. **Alimentación del conejo**. Madrid: Mundi-Prensa, 1984. 175p.

EL-MASRY, K. A.; NASR, A. S.; KAMAL, T. H. Influences of season and dietary supplementation with selenium and vitamin E or zinc on some blood constituents and semen quality of New Zealand White rabbit males. **World Rabb. Sci.**, v.2, n.3. p.79-86, 1995.

ELL-EZZ, Z. R. A.; KOSBA, H. A.; HANDY, S. M. *et al.* Effect of crossing on semen characteristics in rabbits. **Beitr. Trop. Landwirtsch. Vetmed.**, v.4, n.23, p. 429-434, 1985.

HAFEZ, E. S.; HAFEZ, B. Reproduction in farm animals. 7.ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkin, 2000. 509 p.

HANCOOK, J. L. The morphology of boar spermatozoa. **J. R. Microsc. Soc.**, v. 76, n.1, p. 84-87, 1957.

KRUSKAL, W.; WALLIS, W. A. Use of ranks in one-criterion variance analysis. **J. Am. Stat. Assoc.**, v.47, n.260, p.583-621, 1952.

LAGERLOF, N. Research concerning the morphologic changes in the spermatozoa and in the testicles of sterile or subnormally fertile bulls: a review. **Cornell Vet.**, v.24, n.24, p.361-375, 1934.

LAVARA, R.; MOCÉ, E.; LAVARA, F. *et al.* Do parameters of seminal quality correlate with the results of on-farm inseminations in rabbit? **Theriogenology**, v. 64, n.5, p. 1130-1141, 2005.

LILLIEFORS, H. On the Kolmogorov-Smirnov test for normality with mean and variance unknown. **J. Am. Stat. Assoc.**, v.62, n.318. p. 399-402, 1967.

LOPEZ, J.; ALVARIÑO, J. M. R.; DEL ARCO, J. A. *et al.* Effect of male rabbit management on semen production. In: WORLD CONGRESS OF ANIMAL FEEDING, 6., 1996, Toulouse. **Proceedings...** Toulouse: ACAF, 1996. p. 83-86.

LUZI, F.; MAERTENS, L.; MIJTEN, P. *et al.* Effect of feeding level and dietary protein content on libido and semen

characteristics of bucks. In: WORLD CONGRESS OF ANIMAL FEEDING, 6., 1996, Toulouse. **Proceedings...** Toulouse: ACAF, 1996. p. 87-92.

MACEDO, A. P.; MIGUEL, O.; MUCCILOLO, R. G. *et al.* Estudo de algumas características do sêmen de coelho – *Oryctolagus cuniculus* (LINNAEUS, 1975). **Rev. Fac. Med. Vet. Zootec.** Univ. S. Paulo, v.19, n.2, p.151-193, 1992.

MANUAL para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. 2. ed. Belo Horizonte: CBRA, 1998. 49p.

MARTIN, M. Congelacion de sêmen de conejo: efecto de algunos crioprotectores sobre la variabilidade espermática. 1993. Tese (Doutorado) – Universidad Valencia, Valência.

MATAVELI, M. Níveis de selênio na dieta de coelhos e a influência na qualidade e nos métodos de conservação do sêmen. 2008. 52f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR.

MIROS, V. V.; SHULIMOV, A. G.; VOSKRESENSKAYA, N. *et al.* Age at sexual maturity of rabbits. 1980. In: ALVARIÑO, M. R. **Control de la**

reproducción en el conejo. Madrid: Multi-Prensa, 1993. 137p.

MORERA, P.; FAUSTO, A. M.; TADDEI, A. R. Cuantificaciones de las anomalías de los espermatozoos de conejos sometidos a estrés térmico. In: SIMPOSIO CUNICULTURA, 24., 1999, Albacete. **Proceedings...** Albacete: ASESCU, 1999. p. 141-146.

OLIVEIRA, E. M. Ambiência e produtividade na cunicultura. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA E TECNOLOGIA EM CUNICULTURA, 3., 1999, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: UNESP, 1999. p. 15-23.

PASCUAL, J. J. Nutrición de machos destinados a inseminación artificial. **Boletín de Cunicultura**, n. 126, p. 6-20, 2003.

SCAPINELLO, C.; MORAES, G. V.; RODRIGUES, M. L. *et al.* Influência de diferentes níveis de metionina + cistina sobre a produção de sêmen de coelhos Nova Zelândia Branco. **Unimar**, v. 19, n. 3, p. 923-931, 1997.

VIEIRA, M. I. **Criação racional de coelhos.** Guarulhos: Distribuidora Paulista

de Jornais, Revistas, Livros e Impressos
LTDA, 1974. V. 2, 210p.

WILLIAMS, W. W. Thechnique of
collection semen for laboratory
examination with review of several
diseased bulls. **Cornell Vet.**, v. 10, n. 2, p.
87-94, 1920.