

João Filipe Correia Mocito Leitão Pacheco

**Eficiência de exames andrológicos para obtenção de
bovinos reprodutores no Alentejo**

Orientadora: Prof. Doutora Michelle Karen Brasil

**Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias
Faculdade de Medicina Veterinária**

Lisboa

2019

João Filipe Correia Mocito Leitão Pacheco

**Eficiência de exames andrológicos para obtenção de
bovinos reprodutores no Alentejo**

Dissertação apresentada para a obtenção do Grau de Mestre em Medicina Veterinária, no curso de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, conferido pela Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias no dia 26 de Março de 2020 com o despacho nº108/2020, mediante seguinte composição do júri:

Presidente: Prof. Doutora Laurentina Pedroso

Arguente: Prof. Doutor João Cannas da Silva

Orientadora: Prof. Doutora Michelle Karen Brasil

**Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias
Faculdade de Medicina Veterinária**

Lisboa

2019

Agradecimentos

Em primeiro lugar aos meus pais, por todas as oportunidades, e por todas as condições que me deram e que continuam a dar.

Ao Dr. Luis Carrilho, por a oportunidade, pela aprendizagem, e por o exemplo que eu sigo e que vejo nele!

Á Dra. Patrícia Camponês, pela sua amizade, pela ajuda, pelos conselhos e pelo tempo que perdeu comigo.

Á equipa da Vetsul Campo Maior, Luis, Patrícia, ao Jerónimo, ao Paulo e á Sara, onde eu encontrei uma família.

A Professora Doutora Michelle Karen Brasil por ter aceitado o meu pedido para ser minha orientadora.

Ao Dr. Rui Martelo não só pelo estágio, também pela aprendizagem e pela amizade que tenho.

Ao Dr. Ricardo Romão e a Dra. Alexandra Romão pela oportunidade do estágio na clinica Vetel.

Á Madalena, pela sua ajuda e principalmente compreensão, por tantas horas que não pude estar presente.

A todos os colegas, e amigos que durante toda esta etapa tiveram e estão comigo.

*"Chose a job you love,
and you will never to work a day in your life."*

Confucius

Resumo

A eficiência reprodutiva é crucial para a sobrevivência económica da exploração, e o touro tem um papel importantíssimo nesta sobrevivência. O potencial deste tem que ser avaliado antes do mesmo ser introduzido na vacada. O exame andrológico avalia este potencial através do exame físico, anatómico e do espermograma.

É na região sul de Portugal mais propriamente na região do Alentejo onde existem as explorações com maior número de animais em regime extensivo. Este trabalho tem como objetivo realizar uma revisão bibliográfica de todo o sistema reprodutivo masculino, o seu correto funcionamento, de todo o procedimento do exame andrológico e as suas vantagens e do impacto que tem nas explorações.

Os exames andrológicos apresentados neste estudo foram todos realizados em explorações extensivas no Norte Alentejano, com a recolha de dados do exame andrológico de 53 touros, estes animais são de três diferentes raças nomeadamente Angus, Charolês e Limousine. Após o exame físico e a colheita de sémen através do eletroejaculador as características do ejaculado foram avaliadas, nomeadamente a motilidade individual e massal, a morfologia e a concentração.

Abstract

The reproductive efficiency is crucial to the economic survival of the farm, and the bull plays a major role in this survival. The potential of the bull has to be assessed before he is introduced into the herd. The andrological examination evaluates this potential through physical, anatomical and sperm examination.

It is in the southern region of Portugal more specifically in the Alentejo region where the farms have the largest number of animals in extensive regime. This paper aims to perform a literature review of the entire male reproductive system, its correct functioning, the entire procedure of the andrological examination and its advantages and the impact it has on holdings.

The andrological examinations presented in this study were all performed on extensive farms in the North Alentejo, with the collection of EA data from 53 bulls, these animals are from three different breeds namely Angus, Charolais and Limousine. After physical examination and semen collection through the electroejaculation the characteristics of the ejaculate were evaluated, namely individual and mass motility, morphology and concentration.

Abreviaturas, Siglas e Símbolos

ABP – Proteína ligadora de Androgénios

BVD – Diarreia viral bovina

cm – centímetros

CASA – Sistemas computadorizados de análise de sémen

DNA – Ácido desoxirribonucleico

EA - Exame andrológico

FSH – Hormona folículo-estimulante

GnRH- Hormona produtora de gonadotrofina

IA – Inseminação artificial

IBR – Rinotraqueíte infecciosa bovina

LH – Hormona Luteinizante

ML – Mililitro

PI – Persistentemente infetado

PRL – Prolactina

SPZ – Espermatozóide

Índice

| | |
|--|-----|
| Agradecimentos | i |
| Resumo..... | iv |
| Abstract | v |
| Abreviaturas, Siglas e Símbolos..... | vii |
| Introdução..... | 1 |
| Resumo do Estágio | 2 |
| Revisão Bibliográfica | 4 |
| 1. Aparelho reprodutor do macho bovino | 4 |
| 1.1. Anatomia do aparelho reprodutivo..... | 4 |
| 1.1.1 Testículos..... | 4 |
| 1.1.2 Cordão espermático | 6 |
| 1.1.3. Transporte espermatozoides | 6 |
| A. Sistema tubular de transporte | 6 |
| B. Ductos deferentes | 7 |
| 1.1.4 Transferência de sémen | 7 |
| 1.1.5 Pênis | 8 |
| A. Circulação sanguínea..... | 9 |
| B. Inervação..... | 10 |
| C. Glândulas anexas..... | 11 |
| 1.2 Endocrinologia..... | 11 |
| 1.3 Espermatogénese | 15 |
| A. Espermacitogénese | 16 |
| B. Meiose..... | 17 |
| C. Espermiogénese | 17 |
| 1.4 Sémen e espermatozoides | 20 |
| 2. Sanidade e Maneio..... | 21 |
| 3. Fatores que afetam a fisiologia reprodutiva do macho bovino | 22 |
| 3.1 Maneio nutricional | 22 |
| 3.2 Stress térmico..... | 24 |
| 3.3 Idade..... | 25 |
| 4. O exame andrológico | 26 |

| | |
|---|----|
| 4.1 Exame clínico..... | 27 |
| 4.1.1. Avaliação órgãos genitais..... | 28 |
| 4.1.2. Comportamento sexual..... | 30 |
| 4.2 Análise do ejaculado..... | 31 |
| 4.2.1. Características físicas do ejaculado..... | 31 |
| 4.2.2. Características morfológicas do ejaculado..... | 33 |
| 4.3 Conclusão do resultado do exame andrológico | 36 |
| 5 Componente Prática..... | 38 |
| 5.1 Objectivos..... | 38 |
| 5.2 Material e Métodos..... | 38 |
| 5.3 Realização do exame Andrológico | 39 |
| 5.3.1 Recolha do Ejaculado | 39 |
| 5.3.2 Espermograma | 40 |
| 6. Resultados..... | 41 |
| 7. Discussão..... | 47 |
| 8. Conclusões..... | 51 |
| Bibliografia..... | 52 |

Índice de Tabelas

| | |
|---|----|
| Tabela1: Intervenções realizadas durante o estágio curricular..... | 2 |
| Tabela 2:Tabela de referencia para avaliação da circunferência escrotal mínima recomendada para animais <i>Bos Taurus Taurus</i> | 29 |
| Tabela 3: Motilidade individual..... | 40 |
| Tabela 4: Condições para aprovação e reprovação do touro..... | 41 |
| Tabela 5: Resumo estatístico dos 45 animais aptos para o estudo..... | 44 |

Índice de gráficos

| | |
|--|----|
| Gráfico 1: Percentagem animais por raça..... | 41 |
| Gráfico 2: Percentagem animais aptos e não aptos..... | 42 |
| Gráfico 3: Percentagem animais aptos e não aptos por raça..... | 42 |
| Gráfico 4: Média idades das diferentes Raças..... | 43 |
| Gráfico 5: Média perímetro escrotal por raça..... | 44 |
| Gráfico 6: Relação média entre a idade e o perímetro escrotal dos animais..... | 45 |
| Gráfico 7: Relação média entre o perímetro escrotal dos animais e a concentração espermática..... | 45 |
| Gráfico 8: Percentagem média de espermatozoides normais e anormais por raça..... | 46 |

Índice de figuras

| | |
|--|----|
| Figura 1: Anatomia testículotouro..... | 5 |
| Figura 2: Anatomia aparelho reprodutor dotouro..... | 9 |
| Figura 3: Padrão temporal de concentração sérica das hormonas reprodutivas do touro desde o nascimento até à puberdade | 12 |
| Figura 4: Crescimento e desenvolvimento de algumas estruturas do sistema reprodutor do touro desde o nascimento até à puberdade..... | 12 |
| Figura 5: Espermatoogénese | 16 |
| Figura 6: Esquema básico da espermatogénese bovina | 19 |
| Figura 7: Representação esquemática de alterações sofridas pelos espermatozoides durante o processo de migração pela rete testis e epidídimo no ejaculado..... | 19 |
| Figura 8: Constituição espermatozoide bovino..... | 20 |
| Figura 9: Medição do perímetro escrotal..... | 29 |
| Figura 10: Principais defeitos espermáticos no touro..... | 34 |
| Figura 11: Defeitos espermáticos..... | 35 |
| Figura 12: Material utilizado para proceder a avaliação do sémen..... | 39 |

Introdução

A eficiência reprodutiva em bovinos é um dos maiores objectivos a cumprir numa exploração, garantindo e assegurando a viabilidade económica da mesma. A fertilidade traduz-se pela capacidade de efectivar a função reprodutiva de forma eficiente, o que na prática se define como objectivo técnico-económico, um vitelo por vaca e por ano (Martins, et al., 2017).

Nesse sentido o touro contribui significativamente para a definição do perfil reprodutivo numa exploração e, conseqüentemente para a sua viabilidade económica. A presença de touros subférteis nos efectivos diminui a taxa de fertilidade, aumenta o intervalo entre partos e aumenta a percentagem de fêmeas refugadas (Martins, *et al.*, 2017). A importância da fertilidade do macho é muito maior do que a da fêmea individualmente, uma vez que um touro pode cruzar com um grande número de fêmeas, tanto na monta natural como na inseminação artificial (Barbosa, *et al.*, 2005).

O exame andrológico (EA) é um método que permite determinar o potencial reprodutivo de um touro e o método tem sido adoptado em todo o mundo desde há décadas (Romão, *et al.*, 2013). Os touros ganham desta forma especial interesse na eficiência reprodutiva da vacada, e os produtores têm cada vez mais a consciência da importância de efectuar exames andrológicos. Em Portugal a zona do Alentejo é a região com maior produção de bovinos em Portugal, possuindo cerca de 70% das vacas reprodutoras do país, e é também a zona onde se encontram as maiores explorações (Romão, *et al.*, 2013).

Durante o estágio curricular realizado entre Setembro de 2017 e Janeiro de 2018 na VetAl – Clínica Veterinária, realizaram-se vários exames andrológicos em bovinos de várias raças e idades. Devido a esta casuística optou-se por uma análise dos dados adquiridos, relacionando as diferenças encontradas nos touros de raça Angus, Charolesa e Limousine. Portanto, este trabalho tem como objetivo analisar e estabelecer uma correlação entre condição corporal, perímetro escrotal, volume de sêmen, concentração, alterações morfológicas e de motilidade nas amostras de sêmen com a capacidade reprodutiva dos diferentes touros analisados.

Resumo do Estágio

O estágio na Vetal – Clínica Veterinária em Portalegre sob a orientação do Dr. Rui Martelo teve a duração de 6 meses. Os principais objectivos eram consolidar e adquirir conhecimentos, desenvolver capacidades e competências na área de clínica de espécies pecuárias de forma a estimular progressivamente a autonomia e a responsabilidade pessoal.

Durante estes meses, foi realizado o acompanhamento diário do Dr. Rui Martelo e o Dr. Ricardo Romão. Foram observados e efectuados serviços de sanidade e profilaxia em bovinos, ovinos e caprinos. As principais actividades foram a realização de acções de sanidade em efectivos de ruminantes, com vacinação, desparasitação interna e externa, colheita de sangue para despiste de Brucelose, assim como a prova de intradermotuberculização comparada a todos os bovinos com idade superior a 42 dias.

| Intervenção | Casuística (Número de animais) |
|--|--------------------------------|
| Consultas | 77 |
| Urgências | 21 |
| Sanidade e Profilaxia anual do efetivo | 6328 |
| Cirurgia | 13 |
| Palpação Rectal | 158 |
| Ecografias – diagnóstico gestação | 797 |
| Exame Andrológico | 61 |
| Sincronização ciclos reprodutivos | 346 |
| Inseminações Artificiais | 290 |
| Partos Distócicos | 17 |
| Prolapsos Uterinos | 9 |
| Necropsias | 7 |

Tabela 1 - Intervenções realizadas durante o estágio curricular

Foram realizadas actividades de identificação de ovinos. Na área da reprodução foram prestados diversos serviços, tais como diagnósticos de gestação em ovinos, caprinos e bovinos, através de palpação e ecografia, assim como programas de sincronização e implementação de planos específicos de gestão reprodutiva aplicados a cada tipo de exploração. Foram ainda realizadas e observadas inseminações artificiais em bovinos. Na vertente cirúrgica, foram realizadas cirurgias de castração de equinos e cesarianas em bovinos.

No acompanhamento a área de reprodução bovina com o Dr. Ricardo Romão, foram efectuados diversos trabalhos de sincronização de cios, ecografias com fins de diagnóstico de gestação, e exames na área de andrologia bovina. A nível de clinica foi oportuno assistir e participar na resolução de casos de prolapsos uterinos, partos distócicos em bovinos e ovinos, diarreias neonatais em bezerros e patologias respiratórias. A parte dedicada a equinos foi acompanhada pelo Dr. Rui Martelo, onde executámos programas reprodutivos, colheitas de sémen, castrações de equinos e odontologia.

Os animais pertenciam tanto a explorações em regime extensivo como intensivo, as raças predominantes de bovinos eram Alentejanas, Limousine, Mertolengas, Charolesa, Angus e cruzadas, já nos ovinos a raça Merino, Ile de France, sulfok e berrichon du cher. Já para os equinos, sua grande maioria eram da raça Lusitana.

Revisão Bibliográfica

1. Aparelho reprodutor do macho bovino

A anatomia do aparelho reprodutor do touro pode ser agrupada funcionalmente nos sistemas de produção, transporte e transferência de espermatozóides (Hopper, 2015).

O aparelho reprodutor masculino é constituído por diversos órgãos que atuam em conjunto para produzir espermatozóides e libertá-los no aparelho reprodutor feminino (Nunes, 2017). Os órgãos genitais consistem em dois testículos (suspensos dentro da bolsa escrotal por um cordão espermático e pelo músculo cremaster externo); dois epidídimos; dois ductos deferentes; glândulas sexuais acessórias; e o pénis. O escroto em conjunto com os músculos cremasteres e a anatomia vascular das artérias e veias testiculares, tem como função a proteção e a regulação térmica dos testículos (Grossman & Sisson, 2000).

1.1. Anatomia do aparelho reprodutivo

1.1.1 Testículos

Os testículos são os órgãos mais importantes do aparelho reprodutor masculino e que possuem duas funções primordiais: a produção de espermatozóides, e de hormonas sexuais masculinas, (testosterona e outras hormonas como progesterona, estrógeno e colesterol) (Figura 1). Estas duas funções ocorrem nos túbulos seminíferos e nas células de Leyding que são dependentes de hormonas gonadotróficas, LH (hormona luteinizante) e FSH (hormona folículo estimulante), libertadas pela adeno-hipófise (Nunes, 2017).

Os testículos estão alojados no escroto, que se encontra suspenso entre as coxas na região inguinal. O escroto é constituído por duas camadas, a externa e a interna. A parte externa é composta por pele, túnica dartos, fáschia perineal superficial, fáschia espermática externa, fáschia cremáster, fáschia espermática interna e túnica vaginal parietal. Os testículos são cobertos pela túnica vaginal parietal e pela túnica albugínea (Arthur, *et al.*, 1996).

A túnica vaginal visceral é a camada mais interna da túnica vaginal, mais externamente encontra-se uma expansão do peritoneu que passa através do anel inguinal. O potencial espaço entre a túnica vaginal parietal e visceral é o espaço vaginal (Grossman & Sisson, 2000). O objetivo da cavidade vaginal é a regulação térmica do testículo. O testículo aproxima-se do corpo por contração da túnica dartos e dos músculos cremáster (Gabaldi & Wolf, 2000, Hopper, 2015). Para o normal funcionamento dos testículos, estes têm que possuir uma temperatura inferior á temperatura corporal (Hafez & Hafez, 2000).

A túnica albugínea é uma cápsula fibrosa que reveste o testículo e o mantêm sob pressão. Internamente a túnica albugínea forma o mediastino, a partir do qual septos de tecido conjuntivo dividem os testículos em lóbulos indistintos. Esta estrutura de tecido conjuntivo suporta a parte vascular, os nervos, o parênquima e o sistema tubular, ou seja, os túbulos seminíferos (Hopper, 2015).

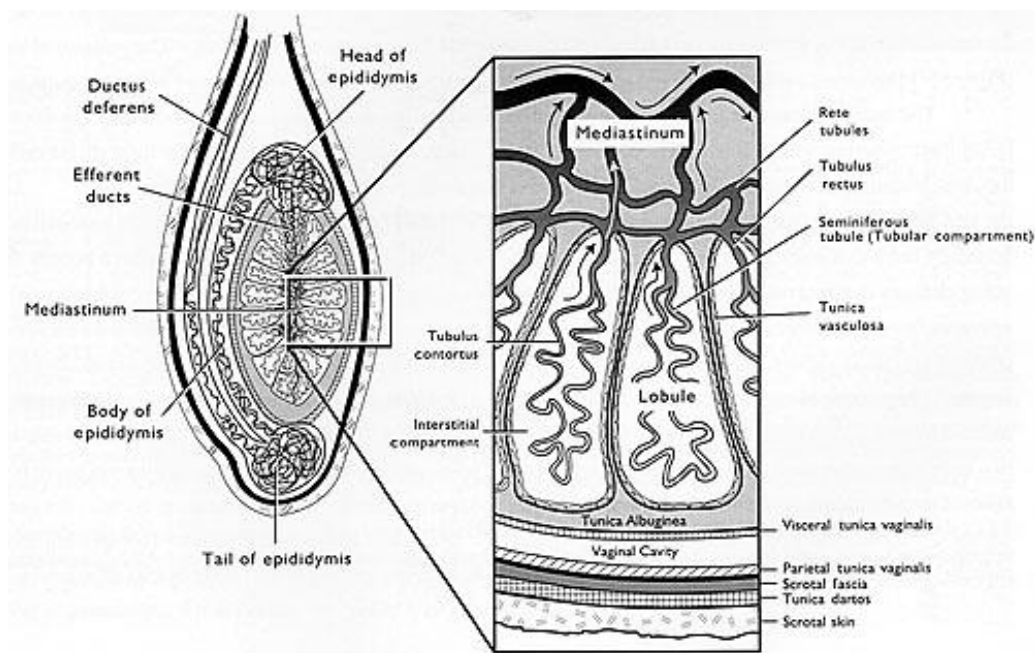


FIGURA 1: ANATOMIA TESTÍCULO TOURO (ADAPTADO DE [HTTP://WWW.ANSCI.WISC.EDU](http://www.ansci.wisc.edu), PORTAL ELECTRÓNICO, ACEDIDO A 15/01/2019).

1.1.2 Cordão espermático

O cordão espermático inclui o ducto deferente, sistema vascular, vasos linfáticos, nervos e epidídimo. Em suma, o cordão espermático consiste em todos os tecidos dentro da túnica vaginal, estendendo-se desde o anel vaginal dentro da cavidade abdominal até ao testículo (Hopper, 2015).

1.1.3. Transporte espermatozóides

Os espermatozóides são transportados dos testículos através de um sistema tubular que consiste nos túbulos seminíferos, túbulos seminíferos retos, rede *testis*, ductos eferentes, epidídimo, ducto deferente e uretra (Nabors & Linford, 2015). Este transporte é feito de uma forma lenta por contrações peristálticas dos músculos através do epidídimo (Amann & Schanbacher, 1983). Este sistema tubular permite a maturação e armazenamento de espermatozóides e fornece o fluído para facilitar o movimento dos espermatozóides (Hopper, 2015).

A. Sistema tubular de transporte

É nos túbulos seminíferos que ocorre o processo de espermatogénese: o desenvolvimento de espermatogónias, espermatócitos primários, espermátides e finalmente espermatozóides. Este processo ocorre dentro da parede dos túbulos seminíferos (Arthur, *et al.*, 1996). Após conclusão da espermatogénese os espermatozóides são libertados para o lúmen dos túbulos seminíferos para iniciar o trajeto através do túbulo seminífero reto. O túbulo seminífero reto faz a conexão entre o túbulo seminífero e a rede *testis*. A rede *testis* está localizada dentro do mediastino do testículo e faz a conexão dos túbulos seminíferos e o ducto eferente que sai do testículo para a cabeça do epidídimo. O sistema tubular eferente continua no epidídimo (Hopper, 2015).

O epidídimo proporciona um ambiente especial para os espermatozóides amadurecerem e adquirirem a capacidade de fertilização (Youngquist & Threlfall, 2007, Nunes, 2017). O epidídimo é constituído pela cabeça, corpo e cauda (Noakes, 1986). De acordo com Hopper, 2015, o epidídimo localiza-se na superfície externa do testículo, sendo que, o corpo do epidídimo localiza-se na superfície medial, a cauda na superfície ventral e a cabeça na superfície dorsal. Trata-se de um enorme novelo de

tubos, com cerca de 30 metros, onde drenam os túbulos seminíferos através da rede testis e ducto eferente (Noakes, 1986).

Na cabeça e corpo do epidídimo ocorrem o transporte e a maturação dos espermatozóides. A cauda tem a função de reservar os espermatozóides (Arthur, *et al.*, 1996).

A passagem do espermatozoide através do epidídimo dura cerca de 10 dias no bovino. (Nunes, 2017). Segundo Hafez & Hafez, 2000, a passagem dos espermatozoides pelo epidídimo demora entre 9-13 dias na espécie bovina.

Na cabeça do epidídimo estão localizados cerca de 36% dos espermatozóides e, no corpo, cerca de 18%. A cauda do epidídimo tem a capacidade de armazenar cerca de 45% até 70% dos espermatozóides, produzidos diariamente, que aí permanecem até serem ejaculados (Nunes, 2017). De acordo com Hafez & Hafez, 2000, a cauda do epidídimo armazena cerca de 75% dos espermatozóides. Os que não forem ejaculados serão reabsorvidos e excretados periodicamente através da urina. Em animais que ejaculam diariamente, o tempo de permanência dos espermatozóides na cauda do epidídimo é menor e a quantidade que fica em reserva chega a 25% da produção diária (Ball & Peters, 2004).

B. Ductos deferentes

O ducto deferente é a continuação da cauda do epidídimo. O ducto deferente entra na cavidade abdominal através do anel inguinal, cruza o ligamento lateral da bexiga e termina no colículo seminal da uretra que alarga na ampola do ducto deferente (Hopper, 2015).

1.1.4 Transferência de sémen

A transferência de espermatozóides do touro para a vaca é obtido, quando por monta natural, pelo processo de intromissão. Para este processo ocorrer requer erecção do pênis e ejaculação de esperma. Anatomicamente este processo conta com o pênis, a musculatura do pênis, a vasculatura e a inervação (Hopper, 2015).

1.1.5 Pénis

Ao nascimento, o pénis do touro é curto e fino, sem flexura sigmóide. A flexura encontra-se fundida com o revestimento interior do prepúcio. Com o tempo, sob influência dos androgénios, os tecidos penianos e prepuciais separam-se. Desta forma a flexura sigmóide desenvolve-se. A não completa separação dos tecidos do prepúcio e do pénis dá origem ao frénulo. Esta condição é muito comum nas raças Angus, Hereford, entre outras, o que sugere uma componente genética. O problema pode ser resolvido através de uma pequena cirurgia, no entanto, devido à probabilidade da patologia estar associada a uma componente genética, a utilização destes touros como reprodutores deve ser ponderada (Youngquist & Threlfall, 2007).

O pénis na espécie bovina pode ser dividido em raiz, corpo e glande. A raiz pode ser definida como a origem do tecido erétil que constitui o pénis e a origem dos músculos do pénis (Grossman & Sisson, 2000). O tecido erétil que compõe a maior parte do pénis é o corpo cavernoso. Os pares de corpos cavernosos originam-se separadamente de cada lado do arco isquiático medial até à tuberosidade isquiática. Individualmente cada corpo é chamado de crura do pénis, passando ventromedialmente até se juntarem e formarem o corpo do pénis. O corpo esponjoso envolve a uretra. A origem do corpo esponjoso chama-se bulbo do pénis, que se origina entre o crura ao longo da linha média do arco isquiático. Desta forma, a raiz do pénis é composta pela crura (corpos cavernosos) e o bulbo (corpo esponjoso) (Hafez & Hafez, 2000, Hopper, 2015).

O músculo retractor do pénis estende-se desde as vértebras caudais e esfíncter anal interno para posterior inserção à flexura sigmóide (Grossman & Sisson, 2000). Durante a erecção estes músculos relaxam, permitindo que o pénis se estenda a partir do prepúcio. Após a erecção os músculos contraem se, de forma a permitir que o pénis se retraia na bainha (Konig & Leibich, 2004; Rabelo et al., 2012).

O corpo do pénis origina-se onde as duas cruras se encontram, distalmente ao arco isquiático, estendendo-se cranialmente e no abdómen médio-ventral torna-se a parte livre do pénis. O corpo do pénis é em forma de “S”, chamando-se flexura sigmóide. A extremidade do pénis encontra-se uma pequena região denominada glande (Nabors & Linford, 2015).

O prepúcio é constituído por uma lâmina interna e uma lâmina externa. A lâmina externa é a dobra externa da pele junto ao abdómen ventral. Junto ao orifício uretral a dobra externa vira para dentro para na cavidade prepucial se transformar na lâmina interna. A lâmina interna tem como função prender a lâmina externa ao epitélio

peniano (Hopper, 2015). Segundo Youngquist & Threlfall, 2007, o prepúcio é uma dupla invaginação de pele. A anatomia básica do bovino macho pode ser observada na figura 2.

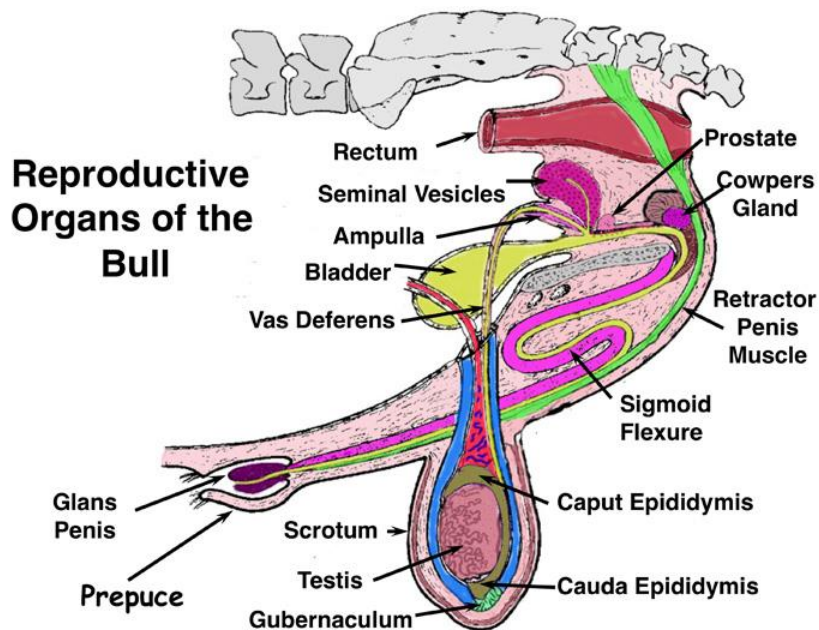


FIGURA 2: ANATOMIA APARELHO REPRODUTOR DO TOURO (ADAPTADO DE [HTTP://WWW.ANSCI.WISC.EDU](http://www.ansci.wisc.edu), PORTAL ELECTRÓNICO, ACEDIDO A 15/01/2019).

A. Circulação sanguínea

Antes de poder ocorrer a ejaculação o testículo terá que produzir espermatozoides. Para tal, requer um suprimento sanguíneo adequado, uma vez que existem exigências metabólicas no processo de espermatogénese. A artéria testicular fornece sangue a cada testículo, um ramo directo da aorta abdominal que se eleva caudalmente às artérias renais. A artéria testicular atravessa a parede abdominal lateral e depois passa ventralmente pelo anel inguinal. Quando a artéria testicular se aproxima do testículo começa a tomar a forma espiral, na proximidade do plexo pampiniforme e na proximidade da veia testicular, formando o cone vascular (Hopper, 2015). Este conjunto arterial/venoso é um sistema de termorregulação eficaz (Arthur, *et. al.*, 1996).

Um suprimento sanguíneo adequado é necessário para o pénis e músculos, uma vez que os processos de erecção e ejaculação estão dependentes de uma boa vascularização (Hopper, 2015). Este suprimento sanguíneo é também necessário para

a manutenção dos tecidos. Esta vascularização tem origem na artéria ilíaca interna. A artéria umbilical fornece o ducto deferente e a bexiga. (Nabors & Linford, 2015, Hafez, 2000)

A artéria prostática, com origem na artéria ilíaca interna supre a próstata, glândulas vesiculares, ducto deferente, ureter e uretra. Como a ilíaca interna continua através da cavidade pélvica, esta divide-se em glúteos caudais e pudenda interna. A pudenda interna dá origem á artéria perineal, artéria uretral e continua como artéria do pênis. A artéria do pênis dá origem a artéria do bulbo do pênis, que irriga os músculos bulboesponjosos e os espaços cavernosos do corpo esponjoso. A artéria profunda do pênis é um ramo que entra no crus do pênis e irriga o tecido erétil, o corpo cavernoso. A artéria do pênis continua como artéria dorsal do pênis passa ao longo da parte dorsal do pênis, glande e prepúcio, sendo responsável pela normal irrigação dos tecidos (Arthur, *et al.*, 1996, Grossman & Sisson, 2000,).

B. Inervação

Os nervos aferentes e eferentes acompanham a artéria testicular para os testículos. Os nervos sacrais fornecem fibras motoras para o músculo estriado do pênis e fibras sensoriais para a porção livre do pênis. As fibras aferentes do escroto e do prepúcio seguem maioritariamente no nervo genitofemoral (Hafez, 2000).

O plexo pélvico fornece fibras autossômicas (simpáticas e parassimpáticas) para a genitália pélvica e músculo liso do pênis (Nabors & Linford, 2015). O nervo pudendo, responsável pela enervação da genitália externa do bulbo, possui fibras motoras, nervosas, sensoriais e parassimpáticas. Este passa pela cavidade pélvica, medialmente ao ligamento sacrociático, e ramifica-se proximamente à incisura isquiática menor da pélvis para os ramos cutâneos proximais e distais enervando a pele da porção caudal do flanco e da coxa (Nabors & Linford, 2015). O nervo pudendo continua pela fossa isquioretal, terminando num ramo prepucial, um ramo escrotal, e no nervo dorsal do pênis. O nervo pélvico fornece inervação parassimpática do plexo sacral. O nervo hipogástrico contribui com fibras do plexo caudal mesentérico para o sistema genital (Nabors & Linford, 2015).

C. Glândulas anexas

As glândulas anexas no macho bovino consistem na: glândula vesicular, Ampola do ducto deferente, próstata e glândulas bulbouretrais (Hopper, 2015).

A ampola é uma dilatação da porção terminal do ducto deferente, encontra-se antes da uretra pélvica e a sua maior função é a reserva de esperma (Arthur, *et. al.*, 1996).

A glândula vesicular é a maior glândula acessória do touro e contribui para o maior volume do ejaculado (Arthur, *et. al.*, 1996). É uma glândula lobada e de consistência firme. Encontra-se dorsal à bexiga e lateral ao ureter e ampola do ducto deferente. O corpo da próstata encontra-se dorsal à uretra e caudal às glândulas vesiculares. A parte disseminada da próstata está na parede da uretra coberta pelo músculo uretral (Hafez & Hafez, 2000, Hopper, 2015).

A ampola, as glândulas vesiculares e a próstata drenam para a uretra através do canalículo seminal. As glândulas bulbouretrais bilaterais encontram-se no plano médio dorsalmente à uretra, as quais são cobertas pelo músculo bulboesponjoso. O seu ducto abre no recesso uretral. O recesso uretral é uma bolsa que se drena dorsalmente na uretra peniana ao nível do arco isquiático (Hafez & Hafez, 2000, Hopper, 2015).

1.2 Endocrinologia

O hipotálamo é o órgão fulcral no controlo da reprodução, fazendo a ponte entre o sistema nervoso e o sistema endócrino (Chenoweth e Kastelic, 2007). A regulação hormonal é feita pelo eixo hipotálamo-hipófise-gónadas o qual é controlado pelo sistema nervoso e poderá ser influenciado tanto por factores ambientais como comportamentais (Chenoweth e Kastelic, 2007).

Logo após o nascimento, existe um aumento transitório da secreção de LH, que se acompanha, até às 20 semanas de idade, de uma rápida proliferação das células de Leydig (Figura 3) (Rawlings et al., 2008). Nesta fase, observa-se ainda um incremento lento na secreção de testosterona e a produção de androstenediona e dihidrotestosterona; em simultâneo observa-se uma estimulação do crescimento testicular (Rawlings et al., 2008). Ao nascimento, os testículos são pequenos e constituídos por células ainda imaturas (Chenoweth e Kastelic, 2007).

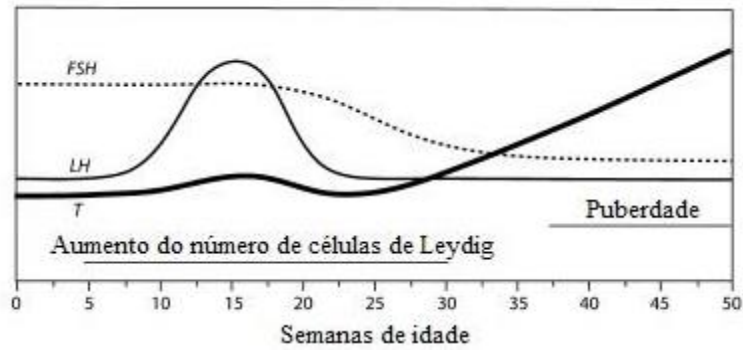


Figura 3 -Padrão temporal de concentração sérica das hormonas reprodutivas do touro desde o nascimento até à puberdade (adaptado de Rawlings *et al.*, 2008)

Entre o nascimento e o início da puberdade as células de Sertoli passam por um período de proliferação que determina o potencial espermiogénico e o tamanho testicular (Figura 4) (Russell e Griswold, citados por Parks *et al.*, 2003). O desenvolvimento sexual dos touros inicia-se com o aumento transitório das concentrações circulantes de gonadotropinas entre os dois e os seis meses de idade (Brito *et al.*, 2012a). O início da puberdade depende da produção contínua de testosterona pelas células de Leydig (após estímulo da LH), assim como da diferenciação das células de Sertoli em resposta àquela hormona (Boockfor *et al.*, 1983; Aguiar *et al.*, 2006).

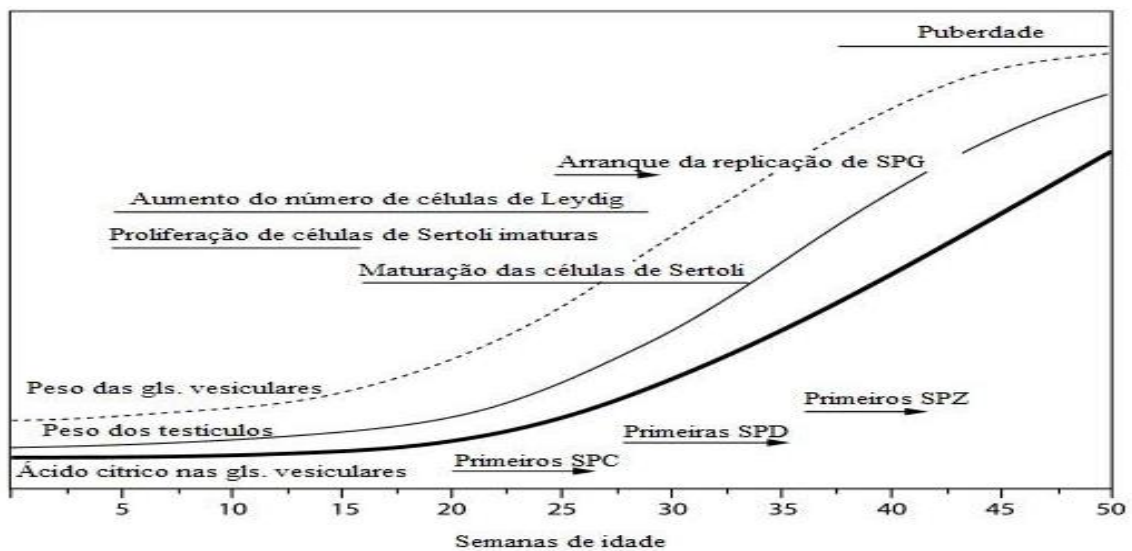


Figura 4.- Crescimento e desenvolvimento de algumas estruturas do sistema reprodutor do touro desde o nascimento até à puberdade. As linhas horizontais indicam o período de tempo aproximado das ações indicadas e as setas indicam o início das ações com continuidade (adaptado de Rawlings *et al.*, 2008).

A puberdade é um processo contínuo e dinâmico mediado pelo eixo hipotálamo-hipófise (Chenoweth e Kastelic, 2007). De um modo geral, a puberdade pode definir-se, tanto no macho como na fêmea, como a habilitação para a reprodução

com sucesso (Senger, 2005). No macho, é definida como a primeira vez que o ejaculado contém pelo menos 50×10^7 SPZ com 10% de motilidade progressiva (Wolf *et al.*, 1965; Bagu *et al.*, 2006), mas pressupõe a exibição de comportamento sexual, ou seja, a libido ou apetência sexual e o desenvolvimento do pénis de modo a permitir a intromissão no genital feminino e ejaculação (Foote, citado por Lunstra *et al.*, 1978).

No macho pós-púbere, a GnRH é libertada pelo hipotálamo e estimula a produção das gonadotropinas LH e FSH na hipófise anterior, que por sua vez estimulam, respetivamente, a libertação de testosterona pelas células de Leydig e a proliferação das células de Sertoli (Amann, citado por Parks *et al.*, 2003). A secreção da LH é pulsátil e ocorre em episódios irregulares a cada duas a quatro horas (Noakes *et al.*, 2001a). As células de Leydig localizadas no tecido intersticial produzem pulsos de testosterona em resposta à libertação de LH (Chenoweth e Kastelic, 2007). A testosterona permanece concentrada nos túbulos seminíferos, linfa testicular e sangue venoso através de um mecanismo de concentração vascular que se localiza no cordão espermático (Amann e Schanbacher, citados por Chenoweth e Kastelic, 2007), e dentro dos túbulos seminíferos pela sua ligação à proteína fixadora de androgénios (ABP).

A testosterona é essencial ao funcionamento das células de Sertoli; os androgénios e a FSH mantêm a função espermática e gerem este controlo através de inúmeros factores parácrinos e autócrinos (Amann e Schanbacher, citados por Chenoweth e Kastelic, 2007). A testosterona influencia também a secreção de LH através de um mecanismo de retroalimentação negativa (Noakes *et al.*, 2001a).

Em resposta à FSH, as células de Sertoli segregam fluídos e ABP (Amann e Schanbacher, citados por Chenoweth e Kastelic, 2007). O papel da ABP é manter elevadas as concentrações de androgénios no lúmen dos túbulos seminíferos e epidídimo (Noakes *et al.*, 2001a). As células de Sertoli produzem também activina e inibina, através das quais exercem uma retroacção sobre a secreção de gonadotropinas, respectivamente estimulando e inibindo a produção de FSH (Chenoweth e Kastelic, 2007). As células de Leydig produzem também estradiol em quantidades variáveis com a espécie, que promove uma retroalimentação negativa no hipotálamo e hipófise anterior, inibindo a produção de GnRH, LH e FSH (Chenoweth e Kastelic, 2007). A espermatogénese é maioritariamente controlada pela FSH e pela testosterona (Ball e Peters, 2004).

A idade do início da puberdade varia consoante as espécies. Nos bovinos varia de acordo com a raça, podendo ter início entre os sete e os dezoito meses, sendo o mais comum os onze meses (Senger, 2005).

Iniciada a puberdade, e em relação à circunferência escrotal existe pouca variabilidade inter-racial e inter-individual, pelo que este constitui um bom indicador da idade à puberdade sendo desta forma utilizada como indicador de precocidade reprodutiva em programas de melhoramento (Lunstra *et al.*, 1978; Bourdon e Brinks, 1986; Siddiqui *et al.*, 2007; Loaiza-Echeverri *et al.*, 2013). Existem, no entanto, outros fatores que influenciam a idade à puberdade, nomeadamente a raça, a ingestão energética, o ganho de peso vivo e a época de cobrição (Ball e Peters, 2004).

Existe uma forte correlação entre a circunferência escrotal e o peso testicular, o qual por sua vez está relacionado com o volume diário e qualidade do sémen; como tal, a circunferência escrotal é uma medida indirecta da capacidade de produzir sémen (Menon *et al.*, 2011; Coulter e Keller; Coe, citados por Eriksson *et al.*, 2012). Existe também uma estreita relação entre a circunferência escrotal e as características reprodutivas nas fêmeas (idade à puberdade, idade ao primeiro parto, entre outras), pelo que seleccionar pela circunferência escrotal à puberdade nos machos tem uma influência positiva no desempenho reprodutivo das fêmeas (Moser *et al.*, 1996; Vargas *et al.*, 1998; Forni e Albuquerque, 2005; Smith *et al.*, citados por Loaiza-Echeverri *et al.*, 2013), em particular na idade à puberdade e longevidade produtiva.

Tendo a circunferência escrotal uma correlação positiva com a eficiência da espermatogénese e conseqüentemente com a produção espermática, esta é um indicador importante na avaliação do potencial fértil de um macho. De facto, Eriksson e colaboradores (2012) demonstraram que touros com uma circunferência escrotal pequena aos 12 meses de idade mantinham uma circunferência escrotal pequena aos dois anos de idade, não conseguindo atingir as dimensões mínimas para raça e idade. Assim, é possível estimar o potencial fértil de um macho com base nos valores da circunferência escrotal recolhida em touros com cerca de 12 meses de idade (Barth, citado por Eriksson *et al.*, 2012).

A circunferência escrotal é um parâmetro mais acessível que a avaliação da libido ou a produção de sémen, podendo ser utilizada para decisões no âmbito da reprodução e na seleção de touros com aptidão para carne para maturidade sexual mais precoce (Lunstra *et al.*, 1978; Loaiza-Echeverri *et al.*, 2013). Seleccionar touros o mais novo possível irá melhorar a reprodução, permitindo maximizar a utilização do animal como padreador e aumentar assim o número da sua descendência, além de

que acarreta também vantagens económicas nomeadamente através da redução relativa dos custos de alimentação e manejo e ao proporcionar lucro aos produtores (Barth e Ominski, 2000; Loaiza-Echeverri *et al.*, 2013).

1.3 Espermatogénese

A espermatogénese é um processo básico de reprodução masculina e que resulta na produção de espermatozóides (Arthur, *et al.*, 1996)

Segundo Hopper, 2015, é um processo celular complexo, através do qual os espermatozóides, célula germinativa haplóide ou gâmeta, se formam a partir de espermatogónias diploides, ou seja, o espermatozóide forma-se após uma série de transformações celulares. Estas transformações ocorrem nos túbulos seminíferos, nos testículos. (Chenoweth e Kastelic, 2007)

A espermatogénese tem sido descrita morfológicamente em fases celulares distintas que progridem através de ciclos organizados. Durante o desenvolvimento fetal, as células primordiais germinativas sofrem diferenciação em gonócitos que, por sua vez, evoluem até espermatogónias, que sofrem mitose durante o resto da vida fetal (Noakes *et al.*, 2001a). Antes da puberdade, os gonócitos assumem uma posição próxima da membrana basal dos túbulos seminíferos e diferenciam-se num *pool* primário de espermatogónias A, as células tronco a partir das quais surgem todas as fases subsequentes de espermatogónias (Parks *et al.*, 2003).

A espermatogénese ocorre em três fases distintas dentro dos túbulos seminíferos dos testículos (Garner & Hafez, 2004, Romano & Brinsko, 2013). A primeira fase é a espermacitogénese, uma fase proliferativa onde espermatogónias sofrem uma série de divisões mitóticas para dar origem a espermatócitos. (Chenoweth e Kastelic, 2007).

A segunda fase é a meiose, onde os espermatócitos sofrem divisão e redução do número cromossómico, de espermatócitos primários (4n) passam a espermatócitos secundários que são diplóides (2n) até que ocorre a divisão final que dá origem a espermátides haplóides redondas (1n). (Johnson *et al.*, 2000)

A terceira fase é onde ocorre diferenciação das espermátides haplóides, num processo chamado de espermiogénese, onde o arredondamento das espermátides haplóides sofre uma série de alterações metamórficas para dar origem aos espermatozoides flagelados e alongados (Ryan, 2015, Hopper, 2015). A duração da espermatogénese no touro é de cerca de 61 dias (Ball & Peters, 2006, Youngquist & Threlfall, 2007). O esquema básico pode ser observado na figura 5.

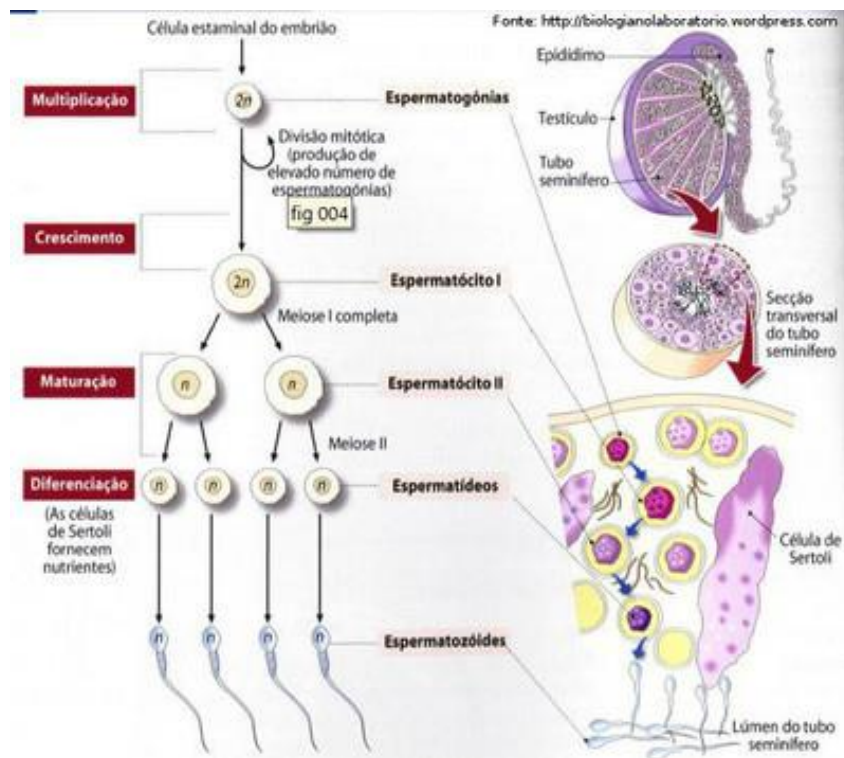


FIGURA 5: ESPERMATOGÊNESE (ADAPTADO DE: [HTTP://BIOLOGIANOLABORATORIO.WORDPRESS.COM](http://biologianolaboratorio.wordpress.com), ACEDIDO A 22/01/2019)

A. Espermacitogênese

A proliferação inicial ocorre na membrana basal dos túbulos seminíferos, onde se encontram as células germinativas. As espermatogônias surgem da camada basal das células germinativas, onde sofrem um ciclo de diferenciação após várias divisões mitóticas. O número de divisões é variável consoante a espécie e formam-se as espermatogônias de A1 a A4, I e B. (Ryan, 2015)

As espermatogônias avançam na lâmina basal dos túbulos seminíferos, encontrando-se interligadas através de pontes que permitem a comunicação do citoplasma entre células. Estas pontes citoplasmáticas facilitam a comunicação intercelular, apoiando desta forma o desenvolvimento sincronizado das espermatogônias. (Ryan, 2015). O touro sofre quatro divisões mitóticas durante a espermacitogênese, dando origem a dezasseis espermatócitos primários. (Barth, 2007)

Durante este processo um *pool* de células germinais (espermatogônias adormecidas A1 e A2) é mantido de forma a dar origem a novas gerações de espermatogônias. Este mecanismo permite a contínua produção de espermatozoides

no macho adulto. Durante este ciclo pode haver perdas celulares devido a degeneração celular, estas células são depois fagocitadas pelas células de Sertoli (Garner & Hafez, 2004, Romano & Brinsko, 2013, Arruda, *et al.*, 2015).

B. Meiose

A divisão mitótica permite um contínuo suprimento de espermatogónias. A divisão meiótica é um processo em que espermatogónias do tipo B sofrem uma redução, passando de diplóides a células haplóides, os espermatócitos. (Barth, 2007). Este processo meiótico divide em metade o número de cromossomas em espermatócitos, mas também garante uma diversidade genética por replicação do DNA e *crossing-over*, dando origem a espermatozóides com características genéticas únicas. Esta replicação e cruzamento de ADN ocorre durante a primeira divisão meiótica, a segunda divisão meiótica dá origem aos espermatócitos haplóides. (Johnson *et al.*, 2000; Kudryavtsev *et al.*, 2003).

Os espermatócitos encontram-se no epitélio seminífero em várias fases de desenvolvimento, isto é devido ao prolongado período meiótico da espermatogénese que no touro pode variar entre 18 a 21 dias. No final deste processo meiótico cada espermatogónia B dá origem a 4 espermátides haploides, com um total de 64 espermátides emergentes de uma única espermatogónia ativa (A3) (Garner & Hafez, 2004, Romano & Brinsko, 2013, Arruda, *et al.*, 2015).

C. Espermiogénese

A fase final do processo é a diferenciação de espermátides redondas em espermatozóides maduros, alongados e flagelados que são libertados para o lúmen dos túbulos seminíferos (Romano & Brinsko, 2013, Garner & Hafez, 2004). A diferenciação ocorre em quatro fases entre o compartimento luminal e as células de Sertoli adjacentes: Fase Golgi; Fase cap; Fase do acrossoma; Fase de maturação (Hopper, 2015).

Durante a fase Golgi pequenas vesículas Golgi que se encontram no citoplasma da espermátide fundem-se de forma a dar origem a estruturas mais complexas, o acrossoma. O acrossoma é uma vesícula ou lisossoma que contém diversas enzimas, incluindo hidrólase, acrosina, esterases, hialuronidases e lisina. Com o avançar do processo de espermiogénese o acrossoma migra e forma uma

“capa” sob o núcleo da célula. Durante o tamponamento o acrossoma cobre cerca de um terço do núcleo, ao mesmo tempo o núcleo e o citoplasma sofrem alongamento e o núcleo começa a ocupar a zona da cabeça da espermátide. Enquanto a zona da cabeça da espermátide sofre alongamento, a peça central e a cauda começam a formar-se, iniciando assim a fase de maturação. (Johnson *et al.*, 2000)

As mitocôndrias migram no citoplasma e formam uma espiral em torno do flagelo posterior ao núcleo, o que define a peça intermédia da espermátide. O flagelo tem origem no centríolo distal para dar origem ao axonema. O axonema está ligado à base do núcleo, estende-se através da peça intermédia e continua de forma a dar origem à cauda da espermátide. Após todas as metamorfoses estarem completas a espermátide alongada e flagelada dá origem ao espermatozóide. Todas estas alterações metamórficas garantem não só que o espermatozóide tenha capacidade de movimento, mas também tenha a capacidade de fertilização do oócito (Ryan, 2015, Hopper, 2015, Arruda, *et al.*, 2015).

A fase final de espermiogénese completa-se quando os espermatozoides emergem do compartimento adluminal dos túbulos seminíferos em direção ao ápice das células de Sertoli e o lúmen tubular. Durante o processo de migração através da rete testis, epidídimo e até à ejaculação os espermatozoides libertam gotículas citoplasmáticas, no entanto, nem todos os espermatozoides surgem com formas normais no ejaculado, como se pode observar na figura 6 (Hopper, 2015). O tempo que os espermatozoides demoram a fazer o trajecto no epidídimo é de cerca de 8,3 dias, no entanto, este período pode variar de acordo com a frequência de ejaculação (Youngquist & Threlfall, 2007).

Antes dos espermatozoides terem capacidade de fertilização sofrem um processo de maturação no epidídimo. A capacidade de penetração na zona pelúcida, membrana externa do oócito feminino, ocorre já no trato reprodutivo feminino e é a fase final do processo de maturação (Hopper, 2015, Arruda, *et al.*, 2015).

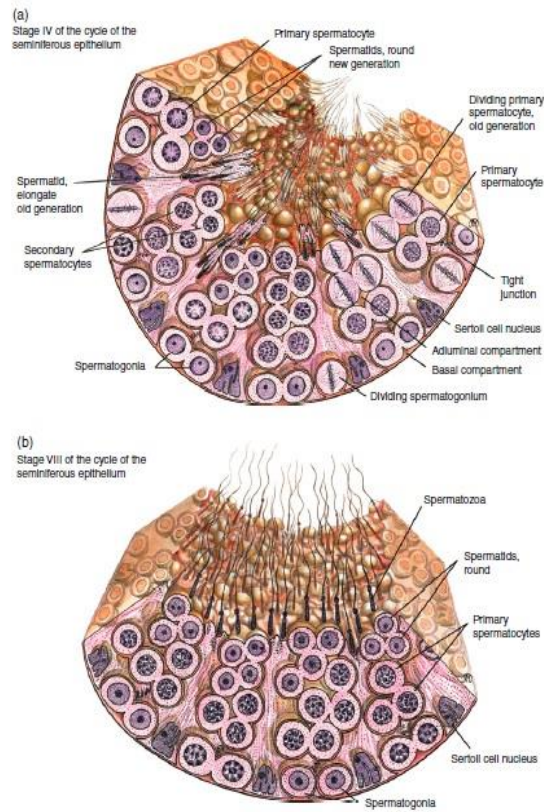


FIGURA 6: ESQUEMA BÁSICO DA ESPERMATOGÉNESE BOVINA (ADAPTADO DE HOPPER, 2015).

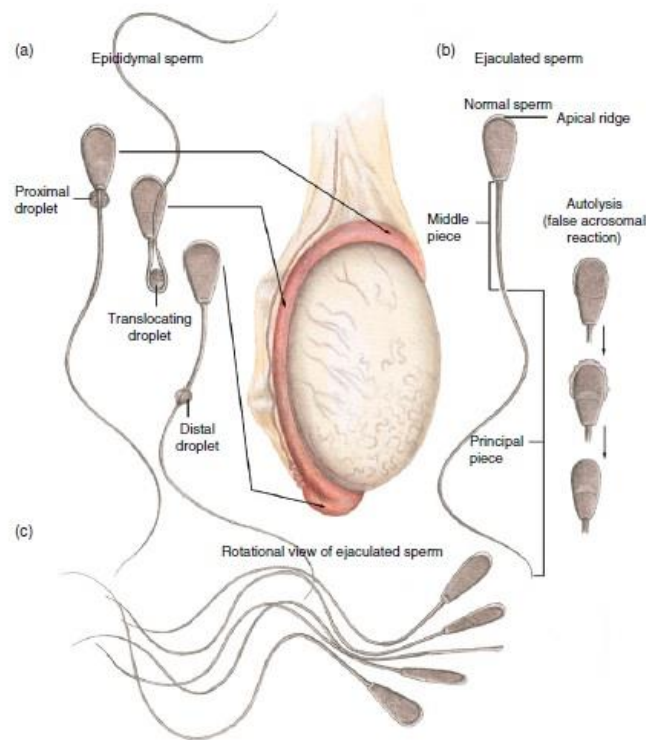


FIGURA 7: REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DE ALTERAÇÕES SOFRIDAS PELOS ESPERMATOZÓIDES DURANTE O PROCESSO DE MIGRAÇÃO PELA RETE TESTIS E EPIDIDIMO NO EJACULADO (ADAPTADO DE HOPPER, 2015).

1.4 Sémen e espermatozoides

O sémen bovino consiste em espermatozóides e plasma seminal. O plasma seminal tem origem em vários locais, nomeadamente nos testículos, epidídimo e glândulas acessórias, contém metabolitos espermáticos (incluindo frutose, ácido cítrico, sorbitol, entre outros), aminoácidos, enzimas, agentes antimicrobianos, hormonas e imunoglobulinas. Grande parte deste volume tem origem nas glândulas vesiculares e próstata. (Frandsen *et al.*, 2009)

A cabeça do espermatozoide contém uma condensação de cromatina de ADN, envolta por uma membrana nuclear, na sua extremidade contém o acrossoma. (Morton, citado por Noakes *et al.*, 2001^a).

A presença de um acrossoma intacto é fundamental e um pré-requisito para o processo de fertilização. A zona equatorial e a região pós-acrossomal são as zonas onde o espermatozóide se funde com o ócito. A mobilidade do espermatozóide é assegurada por movimentos de microtúbulos dentro do complexo axonemal, onde a energia é fornecida por mecanismos oxidativos por parte das mitocôndrias (Youngquist & Threlfall, 2007). A estrutura do espermatozóide pode ser observada na figura 8.

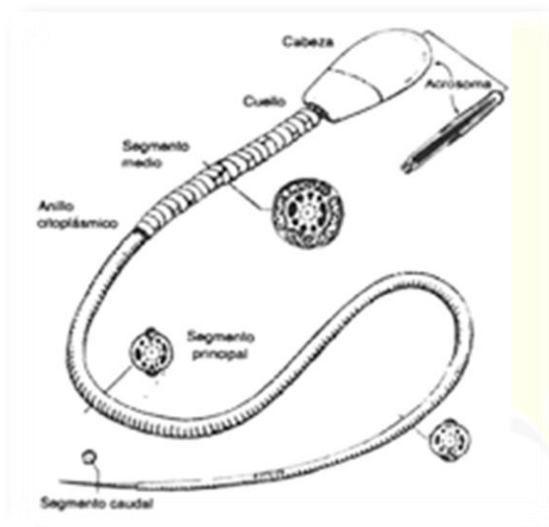


FIGURA 8: CONSTITUIÇÃO ESPERMATOZOIDE BOVINO (ADAPTADO DE GARNER & HAFEZ, 2004).

Os principais defeitos espermáticos serão abordados numa fase posterior da dissertação.

2. Sanidade e Maneio

Numa vacada devemos que ter em conta um bom plano vacinal e adequado tanto a região como aos animais em si, pois existem várias doenças infecciosas que afectam bastante a fertilidade (Palmer, 2016).

A etiologia das doenças que afectam a reprodução é multifatorial, podendo ser de causa infecciosa ou não infecciosa. Para determinar estas causas há que ter em atenção o conceito de medicina de rebanho. O médico veterinário responsável pela exploração deverá identificar os factores de risco, realizar diagnósticos e implementar boas práticas de maneio para melhorar a saúde e produção do rebanho (Fava, Pituco & Genovez, 2007).

Deve ser considerada uma vacinação contra clostrídios anual ou bianual a todo o efectivo, em algumas explorações os planos vacinais também devem ter em conta a Campilobacteriose e Tricomomose, uma vez que os touros podem de transportar o agente causador no prepúcio e permanecer infectados por anos, nem a bactéria *Campilobacter fetus nem Tritrichomonas foetus* que é um protozoário não causam doenças mas interferem na fertilidade (Palmer, 2016).

Também a profilaxia contra a diarreia viral bovina (BVD), deve ser implementada no protocolo vacinal juntamente com a vacinação contra a Rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR).

O BVD foi reconhecido inicialmente em 1946 como agente causador de diarreias e úlceras nas membranas mucosas de animais jovens e abortos em vacas adultas. Hoje sabe-se que o BVD é o agente responsável por diversos sinais clínicos em bovinos, sendo a maioria associada à reprodução (Grooms, 2004). A diarreia viral bovina (BVD) pode ser transmitida via sémen em animais persistentemente infectados (PI) e afetar os touros. O touro pode ser intermitentemente afectado e libertar o vírus no sémen (Newcomer & Givens, 2016).

O IBR ou Rinotraqueíte Infecciosa Bovina, é um herpesvirus. Clinicamente as infeções podem manifestar-se de formas distintas, destacando-se a patologia respiratória (IBR), genital (vulvovaginite; balanopostite pustular infecciosa IPV/IPB), sistémica, nervosa e reprodutiva (Straub, 1990, Wyler, Engels & Schwyzr, 1990). É causador de abortos no último terço de gestação e na balanopostite pustular infecciosa (IPB) os machos infectados podem desenvolver uma severa inflamação do pénis e do prepúcio com lesões semelhantes à vulvovaginite pustular infecciosa. Devido ao incómodo provocado pelas lesões no trato reprodutor o macho evita as

montas e, em alguns casos, há diminuição da qualidade do sémen, por anomalias morfológicas e funcionais dos espermatozóides (Lata Jain, *et al.*, 2008).

3. Fatores que afetam a fisiologia reprodutiva do macho bovino

Existem diversos factores que podem influenciar negativamente a fisiologia reprodutiva do macho bovino e, desta forma, reduzir a fertilidade e causar esterilidade. Processos infecciosos, nutricionais, genéticos e hormonais, além da senilidade podem dar origem a atrofia do epitélio seminífero e redução do volume testicular interferindo, desta forma, na espermatogénese, ao reduzir a actividade testicular, predispondo os testículos à degeneração. A degeneração testicular é a causa mais comum de infertilidade nos machos. Estas alterações acarretam perdas económicas na exploração com alterações significativas na qualidade do sémen e, desta forma, diminuição dos índices de fertilidade e natalidade (Batista, *et al.*, 2015, Mello & Palhano, 2016).

O desempenho reprodutivo dos touros depende das técnicas de manejo implementadas, nomeadamente o manejo alimentar (Batista, *et al.*, 2015).

De forma a garantir um bom desenvolvimento do rebanho e níveis altos de fertilidade é fundamental oferecer condições favoráveis ao bem-estar dos machos que irão para o processo reprodutivo, desde o período de cria até atingirem a maturidade sexual, estando ou não no período de monta (Costa, *et al.*, 2015).

3.1 Maneio nutricional

A produção de sémen depende de vários factores, correlacionados ou não entre si, para que todo o processo ocorra de forma eficiente. Factores como a idade, estado nutricional, genética, clima (luminosidade, temperatura e stress), e alimentação são algumas das variáveis. Alterações nestas variáveis pode alterar tanto a qualidade como a quantidade do sémen produzido (Costa, *et al.*, 2015, Mello, *et al.*, 2016).

A maior ou menor produção de espermatozóides varia entre espécies e entre animais da mesma espécie, do volume testicular e de factores estimulantes e limitantes na espermatogénese. O número de espermatozóides ejaculados é influenciado pela excitação sexual e pela frequência de ejaculação (Hafez & Hafez, 2000).

A alimentação é um factor essencial no desenvolvimento sexual. Quando a ingestão de energia é restrita, o desenvolvimento testicular diminui e a produção espermiática pode ser reduzida. Défices prolongados de nutrientes podem levar a infertilidade. Por outro lado, uma alimentação excessiva pode dar origem a reprodutores obesos e indolentes dando também origem a alterações negativas nas taxas reprodutivas do animal (Mello, *et al.*, 2016).

A subnutrição afecta o sistema endócrino com diminuição da secreção de LH e a resposta da testosterona ao GnRh, alterando a função testicular. Não existe efeito da subnutrição sobre a libido, no entanto, quando a subnutrição é grave o estado físico do animal é afectado, nomeadamente nos períodos de seca. A perda de peso vivo e testicular pode interferir na taxa de fertilidade da próxima época de monta natural, uma vez que o touro demora cerca de quatro meses a recuperar (Hafez & Hafez, 2000).

No caso de touros obesos a fertilidade pode ser afectada pois há alterações na termorregulação corporal e, conseqüentemente, a temperatura testicular, o balanço hormonal e a reserva epididimária. O excesso de tecido adiposo subcutâneo no cordão testicular afecta a termorregulação no plexo pampiniforme, originando hipertermia, redução da testosterona intratesticular, e redução da reserva epididimária, aumentando as anormalidades espermiáticas. Quando o touro tem á disposição uma alimentação constituída 100% por forragem, a produção espermiática por dia é de 12%, sendo superior quando é oferecida uma alimentação energética com 80% de grão (Batista, *et al.*, 2015, Mello, *et al.*, 2016).

Os défices nutricionais podem também originar lesões inflamatórias degenerativas nas gónadas, tais como degeneração, orquite, fibrose e calcificação. Deficiências em vitaminas, minerais, energia e proteínas, especialmente em animais imaturos, a subnutrição leva a estados de caquexia ou a doenças crónicas, podendo causar atrofia e degeneração testicular por supressão de FSH e LH (Mello, *et al.*, 2016). De acordo com Costa, *et al.*, 2015 a degeneração testicular pode apresentar vários níveis de gravidade, é a causa mais comum de infertilidade ou baixos índices de fertilidade nos touros.

A degeneração pode ser devida a vários factores, nomeadamente alterações térmicas, radiação, deficiências nutricionais, causas hormonais e idade avançada. O processo de degeneração é bilateral e mais comumente causado por um processo generalizado, podendo desenvolver-se rapidamente no período de horas ou poucos dias, contudo o processo de regeneração ocorre lentamente, podendo levar semanas a meses até completa recuperação. Os casos de degeneração testicular unilateral

apenas ocorrem secundariamente a lesões testiculares localizadas, como tumores, sendo que existe destruição do epitélio germinativo, incluindo as espermatogónias e as células de Sertoli, não havendo regeneração desse epitélio o animal torna-se estéril (Hafez & Hafez, 2000, Miranda, *et al.*, 2011, Costa, *et al.*, 2015).

Os machos com índices baixos de fertilidade e machos estéreis devem ser identificados rapidamente, uma vez que originam perdas económicas significativas na exploração (Costa, *et al.*, 2015).

3.2 Stress térmico

O stress pode ser definido como uma reacção do organismo do animal a alterações prejudiciais que, geralmente, se manifestam por alterações comportamentais, associadas ao sistema nervoso autónomo, neuroendócrino e adrenocorticais (Mello, *et al.*, 2016). Um dos indicadores de que o animal está sob stress é o aumento dos níveis de cortisol sanguíneo. Este aumento de cortisol inibe a actividade do hipotálamo e da hipófise, o que dá origem a queda na produção de diversas hormonas, tais como FSH e LH. Desta forma, o aumento de cortisol pode interferir na espermatogénese, ao afectar a produção de LH e consequentemente a produção de testosterona pelas células de Leydig (Hafez & Hafez, 2000, Mello, *et al.*, 2016).

Aumentos de temperatura ambiental é um dos principais factores que originam stress, prejudicando a normal espermatogénese. Os mecanismos de termorregulação tentam compensar este aumento de temperatura. Os músculos por relaxamento do músculo cremáster externo e das fibras musculares de dartos distanciam as gónadas da parede abdominal o máximo possível, originando a queda de temperatura do sangue através do plexo pampiniforme. Este plexo têm uma importante função na termorregulação testicular ao baixar a temperatura do sangue que entra no órgão pela artéria espermática. No entanto, o calor pode interferir na capacidade de monta, sendo que algumas raças estão mais aptas à adaptação de temperatura (Hafez & Hafez, 2000, Batista, *et al.*, 2015).

Com as alterações na espermatogénese pode haver alterações no desenvolvimento celular. Dependendo do estado do desenvolvimento celular em que ocorre o stress podem existir espermatozóides com defeitos, tais como, a não condensação da cromatina, vacúolos, deformações da cabeça, mau funcionamento das mitocôndrias e falha no endurecimento das fibras da cauda do espermatozóide (Costa, *et al.*, 2015).

A queda de fertilidade em touros submetidos a stress térmico pode ser devido a um aumento de stress oxidativo, onde existe um desequilíbrio entre a produção das espécies reactivas ao oxigénio e os níveis de protecção antioxidante. A célula espermática é altamente sensível aos danos causados pelo acúmulo de espécies reactivas ao oxigénio devido à alta quantidade de ácidos gordos poli-insaturados presentes na membrana plasmática e às baixas concentrações de enzimas antioxidantes no citoplasma (Hafez & Hafez, 2000). Apesar do efeito fisiológico normal das espécies reactivas ao oxigénio na fisiologia espermática, um desequilíbrio entre a produção e eliminação destas no sémen pode dar origem a efeitos prejudiciais nos espermatozóides. Observa-se também que as concentrações séricas de LH diminuem após o stress térmico, o que afecta profundamente a espermatogénese (Mello, *et al.*, 2016).

O frio do Inverno, principalmente em zonas de Invernos mais rigorosos, também afecta significativamente a qualidade do sémen. As percentagens de espermatozóides com defeitos na peça intermédia diminuem, mas a percentagem de espermatozóides com defeito da cabeça aumenta significativamente com o aproximar do tempo mais quente (Barth & Waldner, 2002).

3.3 Idade

A maioria dos touros é seleccionada de acordo com o *pedigree*, pelas características de conformação e pelo resultado em exames andrológicos (Fonseca, *et al.*, 1992).

Os ejaculados produzidos no início da maturidade sexual apresentam, em média 50 milhões de espermatozóides por mililitro e motilidade espermática de 10%. Estes ejaculados ocorrem por volta dos 8 meses de idade, sendo que, os primeiros ejaculados apresentam grande percentagem de anomalias espermáticas. Contudo, com o aumento da maturidade sexual a percentagem de anomalias primárias diminui (anomalias no acrossoma, cabeça pequena e piriforme), como resultado de alterações na espermatogénese (Silva, Ferraudo, Perecin & Lima, 2009).

Altas temperaturas, nos períodos anteriores à colheita, afectam significativamente todas as características do sémen em animais jovens e não afectam o volume e a motilidade em animais mais velhos. Os efeitos prejudiciais do stress térmico ocorrem nas três primeiras semanas da espermatogénese (Silva, *et al.*, 2009).

Em estudos realizados por Silva *et al.*, 2009, a idade do touro afectou significativamente o volume de sémen ejaculado, a concentração espermática e as anomalias espermáticas.

4. O exame andrológico

Em explorações de bovinos de carne o sucesso económico está praticamente dependente da eficiência reprodutiva, uma vez que o rendimento vem apenas da venda de vitelos. Este sucesso reprodutivo depende de uma boa saúde reprodutiva dos machos e fêmeas presentes na exploração, contudo, a fertilidade do touro revela-se de maior importância visto que apenas um touro vai cobrir um número considerável de vacas (Bettencourt & Romão, 2009). Desta forma o exame andrológico completo de todos os touros da exploração é fundamental para o sucesso reprodutivo do efectivo (Valle, Andreotti & Thiago, 1998).

A selecção dos touros que vão ser utilizados como reprodutores é uma das etapas mais importantes para os rebanhos que optam pelo sistema de monta natural, principalmente ao considerar que o macho transmite 50% do seu genótipo a um grande número de fêmeas (Bicudo, *et al.*, 2007).

O exame andrológico (EA) em bovinos é um exame realizado pelo médico veterinário para determinar a capacidade de um touro gerar descendência (Fordyce *et al.*, 2006). Este exame é importante para reunir informações que permitam concluir se os machos são férteis e aptos para serem reprodutores (Simões, 2008). Os EA têm sido realizados em todo o mundo desde há décadas. Contudo, em Portugal não era um exame de rotina em bovinos há alguns anos atrás. No entanto, hoje em dia muitas equipas médico veterinárias começam a promover este serviço aos produtores e/ou às associações de produtores (sobretudo associados às raças) e têm vindo cada vez mais a solicitar esta assistência. Os produtores começam a ter consciência que o EA é essencial para uma boa *performance* reprodutiva na exploração que permita atingir os objectivos económicos. O Alentejo é a região do país com maior produção de bovinos, possuindo cerca de 70% das vacas reprodutoras do país, e também é onde estão localizadas as maiores explorações, razão pela qual é essencial generalizar esta metodologia na região. Embora o EA seja um teste relativamente simples e de rápida execução este exige qualificações técnicas e equipamento mínimo adequado e, desta forma, utilizar a informação obtida com segurança e prever o potencial reprodutivo do touro (Romão, *et al.*, 2013).

De acordo com os parâmetros implementados pela Society for Theriogenology (SFT) em 1993, para atingir uma classificação positiva de reprodutor

satisfatório, o touro terá que atingir níveis mínimos em quatro categorias: no exame físico geral, no exame do trato reprodutivo, na circunferência escrotal de acordo com a idade e no espermograma, nomeadamente na motilidade e morfologia dos espermatozoides (Alexander, 2008). Segundo Barbosa, Machado e Bergamaschi (2005), este exame é composto por 4 fases: identificação do animal e do proprietário, exame clínico, espermograma e conclusão. Este exame deve ser efectuado cerca de 60 dias antes da época reprodutiva, uma vez que é essa a duração da espermatogénese (Bettencourt & Romão, 2009).

Através do exame andrológico completo podem ser detectadas alterações do desenvolvimento do sistema reprodutor, alterações regressivas, alterações progressivas e alterações inflamatórias nos diversos órgãos, bem como distúrbios na libido e na capacidade de cópula. Estas alterações levam tanto à incapacidade de fertilização como de monta, em vários graus, caracterizando quadros de subfertilidade ou de infertilidade masculina (Catita, 2013).

O EA para além de ser fundamental para determinar a fertilidade dos touros na exploração antes da estação de monta, este exame também pode ser realizado com outros objectivos: na relação de comercialização de reprodutores; na ocorrência de falhas reprodutivas na exploração; determinação da ocorrência de puberdade; diagnóstico de problemas de fertilidade e para ingresso nas centrais de inseminação, com vista a congelação do sêmen (Barbosa, *et al.*, 2005).

4.1 Exame clínico

O exame clínico deve ser efectuado em repouso e em movimento e deve ser começado pela anamnese para se obter a maior informação possível acerca do animal. A realização da anamnese é de extrema importância, pois considerando que a produção espermática é um processo contínuo, que requer cerca de 60 dias desde o início da espermatogénese até à ejaculação, é importante conhecer a história clínica do touro no período antecedente ao exame (Gimarães, 2017).

Durante a anamnese deve ter-se em atenção: a idade, eficiência reprodutiva anterior, estado de saúde, resultados de testes efectuados no âmbito dos programas de erradicação de doenças de declaração obrigatória, programa vacinal e desparasitações efectuadas, ocorrência de patologias infecciosas e não infecciosas, relação macho/fêmea, eficiência reprodutiva do efectivo, manejo alimentar, peso vivo/condição corporal (Martins, *et al.*, 2017).

De seguida deverá efectuar-se o exame físico geral. Deve começar-se por inspecção geral do animal e nesta fase é extremamente importante a avaliação do sistema locomotor. Este é essencial para o animal procurar alimento e para procurara fêmeas em cio. Em suma, para garantir uma boa *performance* reprodutiva o animal tem de estar fisicamente normal. O animal deve estar com boa condição corporal para a sua raça e idade. Os órgãos dos sentidos (visão, olfacto e audição) devem estar aptos para a alimentação e detecção de vacas em cio (Simões, 2008).

Após a inspecção geral deverá efectuar-se o exame do aparelho reprodutivo. Os órgãos genitais externos são examinados por inspecção e palpação, enquanto os órgãos internos são examinados por palpação rectal (Barbosa *et al.*, 2005).

O exame andrológico deve incluir a avaliação serológica para agentes infecciosos que afectam a reprodução (BVD, IBR, brucelose, leptospirose) e a recolha de material para pesquisa de agentes de transmissão venérea como *Tritrichomonas fetus* e *Campilobacter fetus* (Silva & Costa, 2010).

4.1.1. Avaliação órgãos genitais

A inspecção dos órgãos genitais externos revela a eventual existência de lesões dermatológicas, perfurantes ou a existência de assimetrias. À palpação os testículos devem mover-se livremente no escroto e serem de tamanho semelhante. A sua textura deve ser firme, mas menos densa do que a do epidídimo e cordão espermático, que devem apresentar uma relação anatómica e tamanhos relativos normais (Kastelic & Thundathil, 2008).

Os epidídimos devem estar intimamente aderidos aos testículos e deve ser avaliado a cabeça, corpo e a cauda. O escroto deve ser examinado quanto à espessura da pele, sensibilidade, mobilidade, temperatura, presença de ectoparasitas, aderências e possíveis lesões na pele. O prepúcio deve ser examinado desde o orifício externo (óstio) até à sua inserção próxima ao escroto. Deve ser avaliada a temperatura e aumentos de volume, prolapsos, abscessos, hematomas e cicatrizes. O pénis deve ser examinado em repouso ou após a erecção, várias alterações podem ser detetadas (Barbosa, *et al.*, 2005).

Após inspecção e palpação da genitália externa deve medir-se o perímetro escrotal. Este é medido em centímetros, com auxílio de uma fita métrica na zona de maior diâmetro dos testículos (Figura 9). Esta medida está directamente relacionada com a quantidade e qualidade do sémen, sendo também um óptimo indicador da idade à puberdade dos machos (Moraes, Horm & Rosado, 1998, Chacur, *et al.*, 2006, Silva,

et al., 2016). Deve ter-se em atenção que os valores variam com a raça e a idade, entre outros fatores, a Society for Theriogenology elaborou uma tabela de referência dos valores mínimos de circunferência escrotal, em centímetros, nas diferentes idades para animais de raças taurinas (*Bos taurus taurus*) (Barbosa, et al., 2005). Estes valores podem ser observados na tabela 2.



FIGURA 9: MEDIÇÃO DO PERÍMETRO ESCROTAL (ADAPTADO DE SILVA & COSTA, 2010)

| Idade (meses) | Circunferência escrotal (cm) |
|---------------|------------------------------|
| <15 | 30 |
| >15<18 | 31 |
| >18<21 | 32 |
| >21<24 | 33 |
| >24 | 34 |

Tabela 2: Tabela de referência para avaliação da circunferência escrotal mínima recomendada para animais *Bos taurus taurus*. Adaptado de Barbosa, et al., 2005.

O perímetro escrotal é uma característica que possui hereditariedade de moderada a alta, estando relacionada com o ganho de peso, as características

reprodutivas das fêmeas e as características reprodutivas dos machos (Siqueira, Guimarães & Pinho, 2013).

A selecção de reprodutores tendo em conta o perímetro escrotal demonstra ser favorável à diminuição dos defeitos espermáticos no ejaculado (Siqueira, *et al.*, 2013). A motilidade, vigor e concentração espermática são parâmetros directamente relacionados com a biometria testicular (Kanazawa, Scott, Wilges, Dias & Souza, 2012).

De acordo com Kanazawa, *et al.*, 2012, a mensuração testicular correlaciona a idade e a raça, podendo ser utilizada como um padrão de selecção de touros. Existe uma grande variação de tamanho dos testículos de touros da mesma idade, dentro da mesma raça. Desta forma, o crescimento escrotal é curvilíneo e não linear, tendo alta relação com a morfologia espermática, sendo que testículos com circunferência maior que 32 cm produzem altos índices de células normais.

Silva, *et al.*, 2016 realizaram um estudo sobre a correlação entre o perímetro escrotal e a idade em touros de raça Aberdeen Angus, tendo concluído que a correlação entre o perímetro escrotal e a idade nos dados analisados evidencia que outros factores além da idade, ambiente e manejo influenciam o perímetro escrotal.

O exame dos órgãos reprodutivos internos, como referido anteriormente, é efectuado através de palpação rectal, ou menos usualmente por ecografia, devendo avaliar-se as ampolas dos canais deferentes e as glândulas vesiculares, quanto ao tamanho, forma, lobulação e sensibilidade (Barbosa, *et al.*, 2005, Bettencourt & Romão, 2010).

4.1.2. Comportamento sexual

A libido é um aspecto que possui uma frequência relativamente alta entre as causas de classificação de reprodutores como não aptos. Estudos realizados demonstram que o número de montas completas efectuadas numa fêmea em estro é em média de 1,5 a 2 montas. O manejo aplicado na exploração apresenta grande influência sob o comportamento sexual. O comportamento de dominância altera o comportamento de animais subordinados (Guimarães, 2017).

A avaliação do comportamento sexual é importante, uma vez que o touro seja aprovado no exame clínico e de sémen também deverá estar apto para detectar e cobrir fêmeas em estro (Batista, 2008). O olfacto é um sentido fundamental neste processo. Desta forma, é recomendável a aplicação de testes de comportamento sexual em complemento dos outros testes efectuados. Existem diferenças no

comportamento sexual entre raças e influência da componente genética na expressão da libido. Nas raças taurinas (*Bos taurus taurus*), o teste mais utilizado baseia-se na observação do número de cópulas que o touro consegue realizar durante 40 minutos em vacas fora de estro contidas em troncos apropriados. Antes da realização do teste, deve ser permitido ao touro visualizar durante 10 minutos outros touros a efetuar a monta, servindo como pré-estimulação (Barbosa, *et al.*, 2005, Silva, 2009).

Os testes de comportamento sexual têm aplicação independentemente do prognóstico de fertilidade e a sua interpretação deve ser criteriosa, considerando as condições em que é executado (Barbosa, *et al.*, 2005).

4.2 Análise do ejaculado

Após um exame clínico minucioso, deve proceder-se à realização do espermograma, com o objetivo de avaliar a quantidade e qualidade do sémen. Para tal, é fundamental possuir um local com um microscópio comum, com objetivas de ampliação de 100 ou 400 vezes e platina aquecida (37 °C), água quente para aquecer externamente o tubo de colheita, eletroejaculador completo, lâminas e lamelas, corantes para ver a morfologia dos espermatozóides, contador de células, tubos de centrifuga, pipetas e tubos para as amostras e luvas de palpação (Barbosa, *et al.*, 2005, Martins, Rodrigues, Duarte & Carvalho, 2017).

Os principais métodos para a recolha de sémen são a vagina artificial e a eletroejaculação, sendo esta última a mais utilizada (Simões, 2008, Nicacio, 2014). A eletroejaculação é um método de recolha mais fácil, mais rápido e mais seguro para o operador. Este método permite ainda a recolha de amostras de animais em situação de campo (Simões, 2008).

4.2.1. Características físicas do ejaculado

Após a colheita do sémen deve ser avaliada a amostra macroscopicamente, observando a consistência, cor, e volume do sémen (Noakes, Parkinson & England, 2001). O volume é avaliado por medição em mililitros no tubo de colheita e varia entre 5 a 8 mililitros. A cor deverá ser branca ou marfim e a consistência deve ser cremosa (Barbosa, *et al.*, 2005).

De seguida deve proceder-se à avaliação microscópica, onde são avaliadas a motilidade e morfologia dos espermatozóides, a percentagem de espermatozóides

normais, a concentração, a progressão uniforme e retilínea, a presença de material estranho no sémen, de forma a garantir a qualidade do ejaculado (Moares, *et al.*, 1998, Noakes *et al.*, 2001).

A motilidade em massa deve ser avaliada através da observação de uma gota de sémen colocada sobre uma lâmina pré-aquecida, em microscópio ótico, com objetiva de aumento 10 ou 20 vezes. A motilidade em massa mede a intensidade da onda de movimento dos espermatozóides resultante da motilidade individual, do vigor e da concentração espermática. A escala é avaliada de 0 a 5, em que zero é ausência de movimento em massa e cinco acentuada movimentação (Barbosa, *et al.*, 2005, Lone, *et al.*, 2017).

A avaliação da motilidade é um teste rápido. A avaliação varia de zero a cinco, em que zero representa a ausência de movimento e dá-nos a percentagem de espermatozóides móveis, característica que está relacionada com a fertilidade (Foote, 2003). A avaliação é subjetiva e é realizada através da visualização, em microscópio ótico com objetiva 10 ou 40 vezes, de uma gota de sémen fresco entre uma lâmina e uma lamela previamente aquecidas (Lone, *et al.*, 2017).

A avaliação do vigor, ou seja, da intensidade de movimento individual dos espermatozóides, é efetuada na mesma preparação da motilidade e logo após essa avaliação. A escala de avaliação também varia de zero a cinco, em que zero representa células paradas e cinco movimento vigoroso e de alta velocidade (Barbosa, *et al.*, 2005, Lone, *et al.*, 2017).

A concentração espermática representa o número de espermatozóides por unidade de volume do ejaculado. Existem vários métodos de contagem de espermatozóides. O mais comum é a contagem em câmara de *Neubauer*, em que um volume de sémen conhecido é diluído num volume de solução conhecida (geralmente formolsalina tamponada), que, após homogeneização, é colocado na câmara e a determinação é realizada em microscópio ótico com objetiva 10 ou 20 vezes, sendo o resultado expresso em número de espermatozóides por mililitro de sémen (Barbosa, Oliveira & Ribeiro, 2011) A concentração pode variar em função de fatores extrínsecos (método de colheita, frequência de cópulas) ou fatores intrínsecos (idade, biometria testicular) (Hafez & Hafez, 2000, Barbosa, *et al.*, 2005).

4.2.2. Características morfológicas do ejaculado

A análise morfológica pode ser realizada através do uso de um esfregaço corado com eosina-nigrosina e posterior visualização ao microscópio. Esta coloração também permite determinar a proporção de espermatozoides mortos e vivos, sendo que os mortos permitem a entrada da eosina, enquanto a nigrosina confere o tom de fundo (Freneau, Chenoweth, Elis & Rupp, 2009).

Segundo Freneau, 2011, para avaliações de rotina das características morfológicas dos espermatozoides poderão utilizar-se duas técnicas principais; esfregaços corados em microscópio de campo claro e preparação húmida com microscópio de contraste de fase. Além disso existem sistemas automatizados que, além de aspectos físicos como motilidade espermática e concentração, efetuam análise da morfologia espermática. O autor refere ainda que estudos recentes que comparam a morfologia espermática de ejaculados dos mesmos touros com duas técnicas, lâmina húmida e contraste diferencial de interferência de fase e esfregaço corado com eosina-nigrosina, verificaram diferenças significativas entre os defeitos maiores e menores, porém não sobre os defeitos totais.

Em cada preparação devem ser visualizadas, no mínimo, 100 células e os resultados das frequências das alterações são expressos em percentagem. Caso seja possível o exame em microscópio de contraste com interferência de fase não é necessário a lâmina corada. Sendo analisados os defeitos de forma e de estrutura, classificando-os como de cabeça ou cauda em 200 células, no mínimo (Barbosa, *et al.*, 2005, Freneau, 2011).

Os defeitos espermáticos observados em lâmina corada (mais comum) são: cabeça subdesenvolvida, cabeça isolada patológica, cabeça estreita na base, cabeça piriforme, cabeça pequena anormal, cabeça com contorno anormal, cabeça delgada, cabeça gigante, curta, larga ou pequena normal, inserção abaxial, retroaxial ou oblíqua da peça intermédia à cabeça e formas teratológicas (Barbosa, *et al.*, 2005, Youngquist & Threlfall, 2007).

A morfologia espermática pode ser classificada em defeitos maiores e defeitos menores, de acordo com a origem do defeito.

- Defeitos maiores: acrossoma, gota citoplasmática proximal, cabeça subdesenvolvida, estreita na base, contorno anormal, *pouch formation* (diadema), cauda enrolada na cabeça, piriforme, patologia da peça intermédia, cauda fortemente

dobrada ou enrolada com gota citoplasmática distal, formas teratológicas (Barbosa, *et al.*, 2005, Youngquist & Threlfall, 2007).

- Defeitos menores: cabeça delgada, cabeça gigante, curta, larga pequena, cabeça isolada normal, cauda dobrada ou enrolada, gota citoplasmática distal (Barbosa, *et al.*, 2005, Youngquist & Threlfall, 2007).



FIGURA 10: PRINCIPAIS DEFEITOS ESPERMÁTICOS NO TOURO (ADAPTADO DE FRENEAU, 2011)

DEFEITOS DE ACROSSOMA: 1. AFROUXADO; 2. INCHADO; 3. DOBRADO; 4-7. KNOBBED (ELEVADO, EM PONTA, DUAS PONTAS, APLAINADO OU ACHATADO); 8. ENRUGADO; 9-10. INCOMPLETO. 11-22.

DEFEITOS DE CABEÇA: 11. NORMAL; 12. DELGADA; 13. ALONGADA; 14-15. DELGADA NA BASE; 16. PIRIFORME; 17 E 19. GRANDE; 18. PEQUENA NORMAL; 20. ARREDONDADA OU GLOBOSA; 21. PEQUENA PATOLÓGICA; 22. CABEÇAS DUPLAS. 23-35.

DEFEITOS DE PEÇA INTERMEDIÁRIA: 23 GROSSAS; 24.PSEUDOGOTA; 25. FILIFORME; 26. MORDIDA; 27. IMPLANTAÇÃO ABAXIAL; 28. SACA-ROLHA; 29 E 33.DESSASOCIADA OU COM APLASIA SEGMENTAR; 30. DUPLA; 31. DIVIDIDA; 32. DESDOBRADA; 34. QUEBRADAS,35. DOBRADA NA CABEÇA. 36-41

DEFEITOS DE CAUDA: 36-37. CAUDA DOBRADA SIMPLES; 38. CAUDAS ENROLADAS SIMPLES; 39-40. FORTEMENTE ENROLADA OU DOBRADA; 41. CAUDA E PEÇA INTERMÉDIA ENROLADA NA CABEÇA; 42. GOTA CITOPLASMÁTICA PROXIMAL; 44-45. GOTA CITOPLASMÁTICA DISTAL; 46.CABEÇA ISOLADA NORMAL OU DECAPITADA.

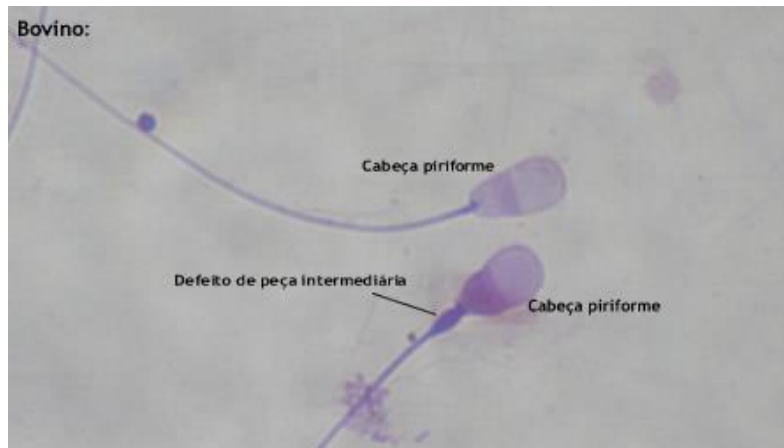


FIGURA 11: DEFEITOS ESPERMÁTICOS. (ADAPTADO DE: [HTTP://PENTA3.UFRGS.BR/VETERINARIA/CELULA/1.5-DEF/DEF_PRIN.HTM](http://penta3.ufrgs.br/veterinaria/celula/1.5-def/def_prin.htm), ACEDIDO A 31/01/2019).

De acordo com Barth, 1989, sémen que apresente muitos defeitos do tipo “pouch formation”, que é considerado um defeito maior, pode até apresentar alta taxa de fecundação, no entanto, este defeito está correlacionado com alta taxa de reabsorção embrionária, resultando em baixa taxa de concepção.

Na interpretação da morfologia espermática deve ser considerado os defeitos maiores e menores, sendo o limite de 5% para defeitos maiores e 25% para defeitos menores. Sendo o limite total de defeitos de 30% (Barbosa, *et al.*, 2005).

De acordo com Freneau, 2011, recomenda-se classificar os ejaculados em:

- Espermatozoides normais: em que o valor mínimo é de 70%. Esta é uma característica isolada que tem maior importância para a fertilidade do touro no rebanho.
- Defeitos maiores: o valor máximo tolerável é de 20%. O rigor ou tolerância na interpretação desta característica deve ter em consideração o quadro clínico e espermático do animal e a distribuição dos defeitos individuais.
- Defeitos menores: o valor máximo tolerável é de 30%, respeitando o limite de 70% de normais e a distribuição dos defeitos individuais.
- Defeitos individuais: sugere que os limites máximos de anormalidades sejam em torno de 5% para defeitos maiores e 10% para defeitos menores.
- Defeitos espermáticos compensáveis: são os defeitos que interferem no transporte e função dos espermatozoides no aparelho reprodutor feminino até ao início da fertilização e o bloqueio da polispermia. Os aspetos metabólicos e a morfologia espermática são importantes para os defeitos compensáveis, uma vez que o seu

aumento impossibilita o espermatozóide de transpor as barreiras do aparelho genital feminino (exemplos: defeitos de cauda, peça intermédia ou cabeça com grandes alterações na forma).

- Defeitos espermáticos não compensáveis: são os defeitos que interferem fundamentalmente na manutenção da fertilização e no início da embriogénese. Estes defeitos afetam a qualidade dos embriões e têm sido associados a erros na cromatina dos espermatozóides. Estes problemas são mais frequentes nos espermatozóides que apresentam cabeças morfologicamente normais ou com pequenas modificações na sua forma (cabeça subtilmente ou levemente deformada).

Os parâmetros para a classificação qualitativa do sémen são a motilidade, que deverá ser no mínimo de 30%, e a morfologia, que deverá ser de 70% de espermatozóides normais (Parkinson, 2004).

A presença de células anormais, como células primordiais, células gigantes, leucócitos, eritrócitos ou células epiteliais devem ser consideradas na interpretação (Barbosa, *et al.*, 2005).

Existem touros que apresentam defeitos espermáticos individuais com uma frequência maior e que não sofre alterações ao longo do tempo. Desta forma, nestes casos foi observada a transmissão genética em determinadas raças. Nos defeitos espermáticos em que foi verificada a forma de transmissão genética, este reportam-se como genes autossómicos recessivos ligados ou não ao sexo. Os principais defeitos espermáticos genéticos são os defeitos do acrossoma (*Knobbed*, incompleto e rugoso); defeitos da cabeça (condensação anormal, cabeças isoladas (80-100%), combinação de gigantes com crista nuclear); defeitos de peça intermédia (defeito de Dag, pseudogota e saca-rolhas); defeitos de cauda (*Stump defect*) (Freneau, 2011).

4.3 Conclusão do resultado do exame andrológico

Os principais objetivos do exame andrológico são a realização de uma estimativa do potencial reprodutivo do touro, identificação de anomalias no trato genital ou alterações no comportamento sexual que possam comprometer a fertilidade (Barbosa, *et al.*, 2011).

No final do exame andrológico, após recolha de todos os resultados do exame clínico geral, do exame clínico genital, análise da amostra de sémen recolhido e avaliação do comportamento sexual (deve ser visualizado a campo), o médico

veterinário emitirá um certificado onde o touro é classificado como apto, inapto ou questionável para a reprodução (Barbosa, *et al.*, 2005, Bettencourt & Romão, 2009).

Os touros aptos são animais que atingem ou ultrapassam o limite mínimo recomendado para a circunferência escrotal, motilidade e morfologia espermática, e não apresentam qualquer característica física anormal ou razão que possa comprometer o desempenho reprodutivo (Barbosa, *et al.*, 2005, Hopper, 2015).

Touros classificados como inaptos são aqueles que não atingem os limites mínimos recomendados em uma ou mais características. Nesta categoria também estão incluídos touros com alterações genéticas ou problemas irreversíveis que comprometem o seu uso como reprodutor (Barbosa, *et al.*, 2005, Bettencourt & Romão, 2009).

Na categoria de touros questionáveis estão incluídos touros que devem aguardar novos exames. Está recomendada em touros imaturos ou que sofrem de um problema transitório que os impede de serem classificados como aptos na altura do exame, no entanto, significa que o touro pode melhorar com a idade ou o período de convalescença (Barbosa, *et al.*, 2005).

Para reduzir a subjetividade inerente ao operador tem sido discutido o recurso a métodos mais sofisticados e precisos, no entanto, a sua utilização rotineira nas explorações depende do custo e da facilidade de utilização, tal como é o caso dos sistemas computadorizados de análise de sémen (CASA) (Romão, *et al.*, 2013).

A avaliação dos touros através do exame andrológico esclarece a capacidade reprodutiva dos machos presentes na exploração, o que permite focar a gestão reprodutiva noutras áreas, tal como refere Bettencourt & Romão (2009).

5 Componente Prática

5.1 Objectivos

No trabalho prático que se apresenta em seguida foi realizado um exame andrológico em campo com o objetivo de aferir acerca do potencial reprodutivo de 53 bovinos, com o intuito de emitir o certificado de fertilidade.

5.2 Material e Métodos

Os dados foram obtidos em explorações de bovinos de carne em regime extensivo, na região do Alto Alentejo. Estes exames foram efetuados após serem solicitados pelos proprietários. Foram testados 53 animais, provenientes de 13 explorações diferentes.

Os dados recolhidos durante o exame foram registados em formato de papel. Posteriormente ao exame, com todos os dados recolhidos e depois da decisão de aprovação ou reprovação do animal no exame, foi emitido um certificado de fertilidade.

Os dados recolhidos no exame foram:

- Número de SIA dos animais;
- Nome do animal quando aplicável;
- Idade do animal;
- Condição Corporal;
- Alterações no exame físico;
- Circunferência escrotal;
- Motilidade massal;
- Motilidade individual;
- Percentagem de espermatozoides vivos;
- Percentagem de espermatozoides normais;
- Percentagem de anomalias primárias
- Percentagem de anomalias secundárias;
- Concentração do ejaculado;
- Volume do ejaculado;
- Resultado do exame andrológico.



Figura 12: Material utilizado para proceder a avaliação do sémen

5.3 Realização do exame Andrológico

Todos os animais foram observados na deslocação para o tronco de contenção para identificar algum tipo de patologia podal ou músculo-esquelético. Outro parâmetro avaliado foi a condição corporal, que foi classificada de uma escala de 1 a 5 onde 1 é muito magra e 5 muito gorda. Já com o animal contido no tronco de contenção foi feito o exame físico do mesmo e onde foram registados as alterações encontradas.

De seguida procedeu-se a tricotomia com uma tesoura e lavagem do prepúcio para o ejaculado ter menor contaminação. Depois fez se uma palpação aos testículos e medição do perímetro dos mesmos, foi critério de rejeição se o animal não tinha as medidas mínimas em relação a idade (tabela 1).

Realizou-se uma palpação transrectal com o esvaziamento do reto para o exame das glândulas anexas; durante a palpação foi realizada uma suave massagem nas glândulas para estimular o touro.

5.3.1 Recolha do Ejaculado

Após todo o processo referido anteriormente, a recolha do sémen foi efetuada através do eletroejaculador, este foi introduzido no reto do animal com os electrodos orientados ventralmente. O ejaculado foi recolhido para um tubo num sistema de recolha. Este tubo estava aquecido previamente em banho-maria a uma temperatura

de 37°C. A avaliação do ejaculado foi realizada o mais rápido possível para evitar a alteração por fatores externos, como a temperatura ambiente ou a luz solar. Se o animal não ejaculasse em dois ciclos, este era retirado para um parque e o exame era repetido ao final de examinar os restantes animais.

5.3.2 Espermograma

A análise do ejaculado começa pela avaliação da motilidade massal, esta análise faz-se colocando uma gota de ejaculado sob uma lâmina previamente aquecida a 37°C e observa-se na objetiva de 10x. É classificada de 0 a 5, onde se avalia os movimentos de onda dos espermatozoides.

A motilidade individual é também avaliada de uma escala de 0 a 5, onde zero é ausência de movimentos e 5 movimentos muito fortes progressivos e rectilíneos. Colocou-se outra gota de ejaculado na lâmina aquecida a 37°C e cobriu-se a mesma com uma lamela. A lâmina foi observada na objetiva de 40x.

Tanto a motilidade individual e a motilidade massal devem ser observadas o mais rapidamente possibilidade, pois existem elementos exteriores que podem influenciar o resultado.

| Grau | Descrição |
|------|--------------------------------------|
| 0 | Espermatozoides sem movimento |
| 1 | 1 a 20% de movimentos progressivos |
| 2 | 20 a 40% de movimentos progressivos |
| 3 | 40 a 60% de movimentos progressivos |
| 4 | 60 a 80% de movimentos progressivos |
| 5 | 80 a 100% de movimentos progressivos |

Tabela 3 - Motilidade individual

A morfologia dos espermatozoides é avaliada através de um esfregaço com eosina-negrosina. No esfregaço observa-se através da objectiva 100x, os defeitos primários e secundários, a contagem de espermatozoides vivos e mortos, num total de 100 espermatozoides.

Após todas as componentes do exame andrológico estarem avaliados pode proceder-se ao resultado final (aprovado/reprovado). Caso o resultado fosse questionável, o animal voltava a repetir exame 60 dias depois.

| APROVADO | REPROVADO |
|--|--|
| Sem alterações no exame físico que possam comprometer a fertilidade; | Com alterações no exame físico que possam comprometer a fertilidade; |
| Possui a circunferência mínima para a idade (tabela 6); | Não possui a circunferência mínima para a idade (tabela 6); |
| ≥ 70% Espermatozóides normais; | < 70% Espermatozóides normais; |
| Motilidade massal ≥ a 2; | Motilidade massal < a 2; |
| Motilidade individual ≥ a 2. | Motilidade individual < a 2. |

Tabela 4 - Condições para aprovação e reprovação do touro

6. Resultados

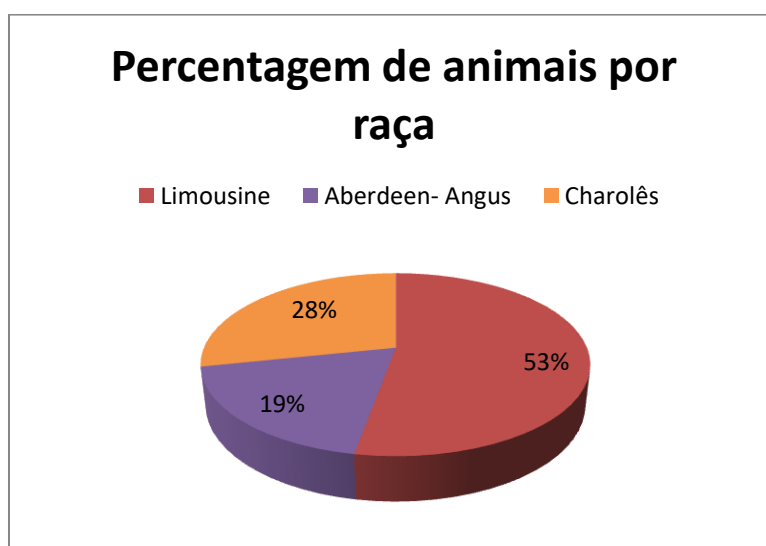


Gráfico 1 – Percentagem animais por raça.

Foram analisados dados de 53 animais. Dos quais 28 pertenciam à raça limousine (53%), 15 à raça charolesa (28%) e 10 à raça Aberdeen-Angus (19%).

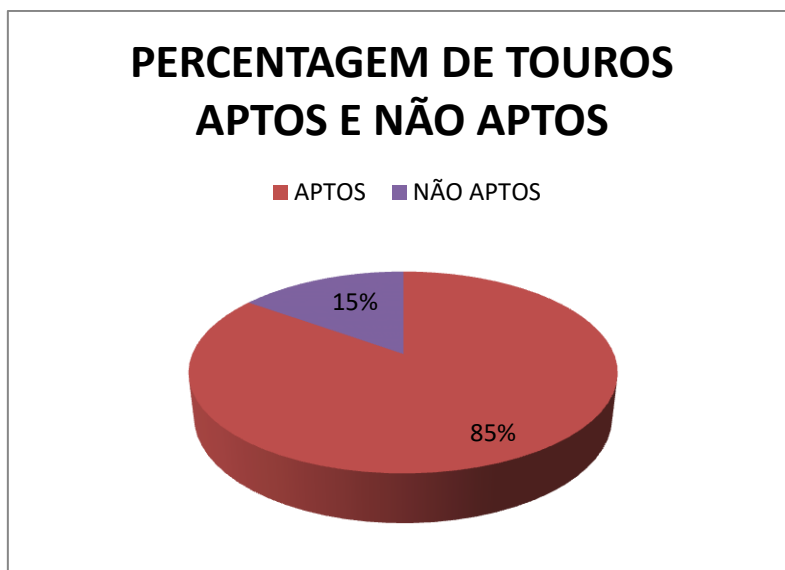


Gráfico 2- Percentagem animais aptos e não aptos.

Dos animais que foram analisados, 8 foram classificados como não aptos, 3 destes animais apresentavam alterações no exame clínico, um deles com uma claudicação e lesão grave do membro posterior direito, outro touro tinha uma grande dificuldade visual além de ter também já alguma idade 9 anos foi recomendado o seu refugo e por fim o terceiro animal que era criptorquideo unilateral. Quanto aos outros 5 animais dois deles tinham uma percentagem elevada de espermatozóides anormais, e os outros 3 por não terem espermatozóides (oligospermia).

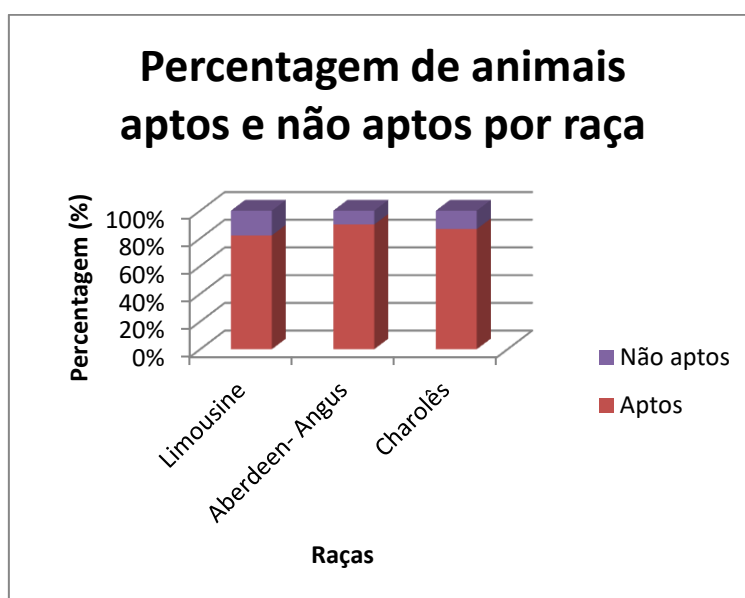


Gráfico 3 – Percentagem animais aptos e não aptos por raça.

A nível do número de animais não aptos por raça, dentro da raça Limousine que foi a que obteve uma maior taxa de refugo, 18%, contudo era a raça em que foram analisados mais animais (28 animais). Na raça Charolesa foram analisados 15 animais e foram refugados 2 touros ou seja uma percentagem de 15%, e na raça Aberdeen Angus foram analisados 10 animais e foi refugado 1 (10%).

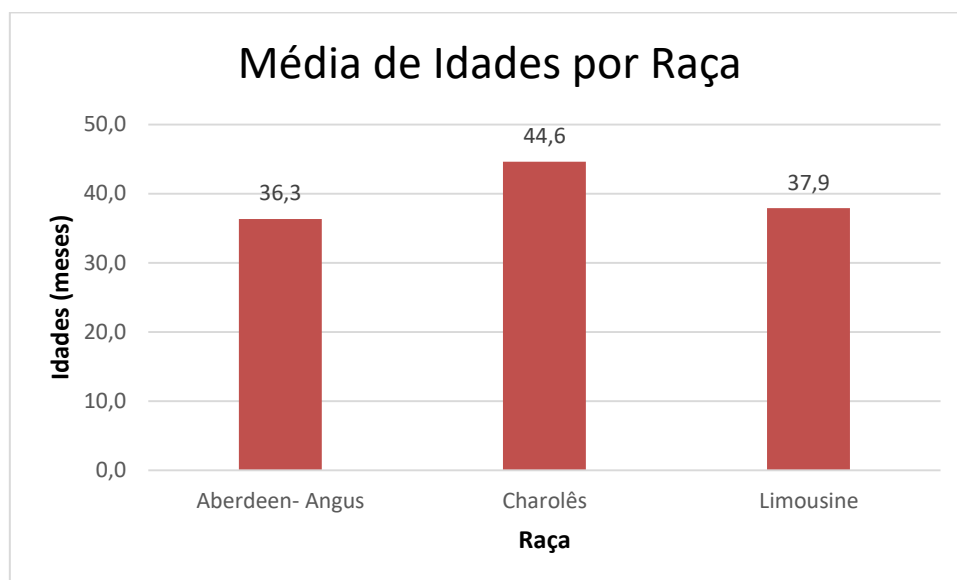


Gráfico 4- Média idades das diferentes Raças

Como a amostra não era uniforme foi realizada uma média de idades onde a raça Charolesa tem uma média de quase 45 meses de idade, seguido pela raça Limousine que tem uma média de idades de cerca de 37 meses e a raça Aberdeen Angus uma média de idades de 36 meses. O animal com mais idade onde o E. A. Foi efectuado era de raça Limousine e tinha 120 meses de idade, enquanto os animais mais novos tinham 18 meses. A idade média da amostra é de 39,5 meses (desvio padrão 21,6).

No seguimento dos resultados, é de notar que foram retirados os 8 touros não aptos, para que os resultados finais, não sejam influenciados negativamente.

| | N | Mínimo | Máximo | Média ± Desvio Padrão | Moda |
|---------------------------------------|----|--------|--------|-----------------------|------|
| Idade (meses) | 45 | 18 | 94 | 39,5 ± 21,6 | 18 |
| Condição Corporal (1/5) | 45 | 4 | 5 | 4 ± 0,21 | 4 |
| Motilidade Massal (1/5) | 45 | 2 | 5 | 3,6 ± 0,71 | 4 |
| Motilidade Individual (1/5) | 45 | 3 | 5 | 3,6 ± 0,62 | 3 |
| Perímetro Escrotal (cm) | 45 | 33 | 38 | 36,2 ± 1,18 | 36 |
| Concentração espermatozoides (SPZ/ml) | 45 | 380 | 900 | 700,6 ± 136,15 | 520 |
| SPZ Normais (%) | 45 | 73 | 96 | 86,5 ± 5,93 | 89 |
| SPZ Anormais (%) | 45 | 4 | 27 | 13,5 ± 5,93 | 11 |

Tabela 5 – Resumo estatístico dos 45 animais aptos para o estudo

Na tabela 5 estão apresentados os dados estatísticos da amostra dos 45 animais aptos para o estudo, sem diferenciação de raça.

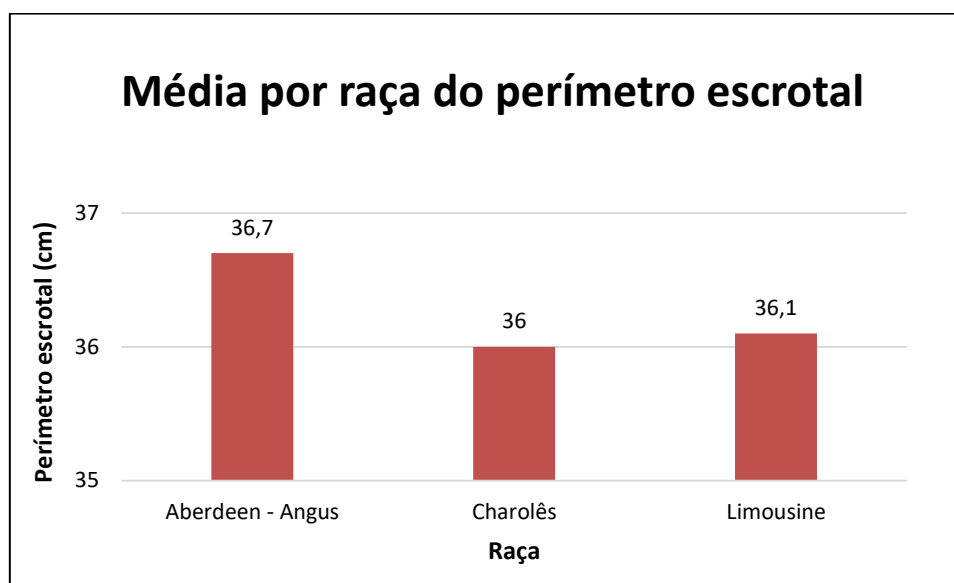


Gráfico 5 – Média perímetro escrotal por raça

A média do perímetro escrotal da amostra foi de aproximadamente 36,2 cm (desvio padrão 1,8), mas se analisarmos dentro de cada raça, pode-se concluir que a raça Aberdeen - Angus é que tem uma média de perímetro escrotal mais elevada, 36,7cm, a raça Charolesa tem uma média de 36 cm e a raça Limousine 36,1 cm. Os animais com um perímetro escrotal mais elevado, eram da raça Limousine com 38 cm.

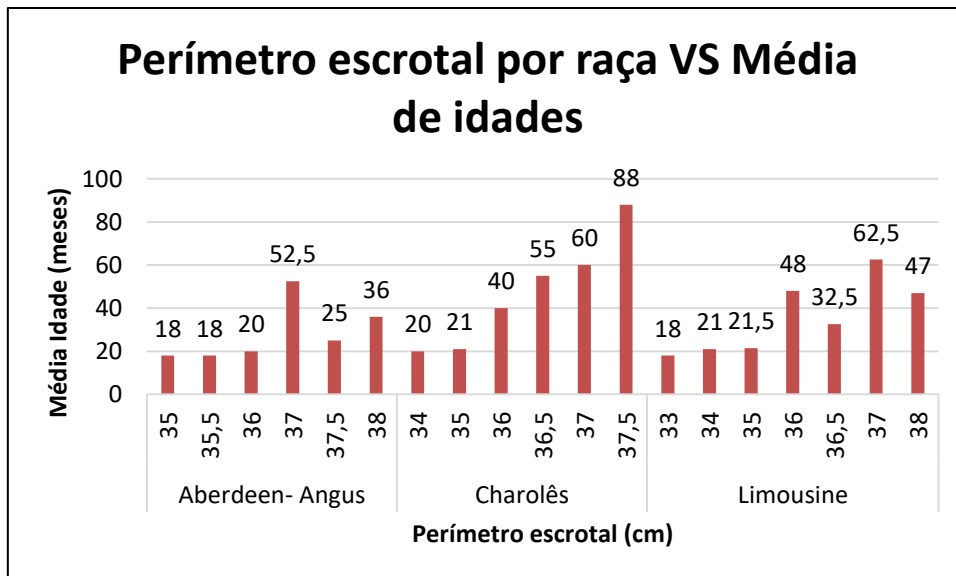


Gráfico 6 – Relação média entre a idade e o perímetro escrotal dos animais

No gráfico 6, relaciona-se o perímetro escrotal por raça com a média de idades, tomamos como exemplo a raça Charolesa, onde se verifica uma forte correlação entre o perímetro escrotal com a média de idade.

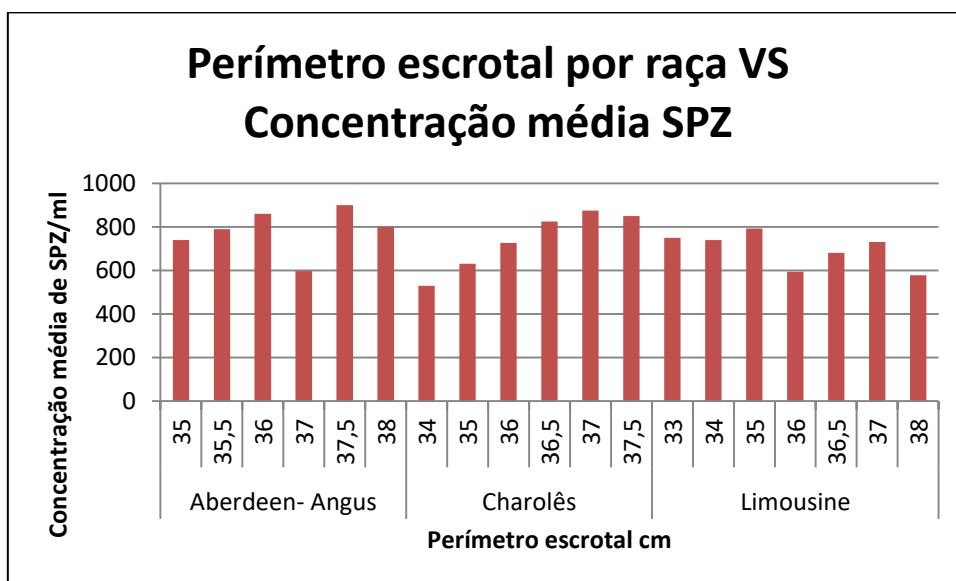


Gráfico 7- Relação entre o perímetro escrotal e a concentração média espermática

O gráfico 7 acima relaciona a circunferência escrotal com a concentração média espermática.

A concentração de espermatozoides foi o parâmetro do sêmen com menor importância, pela facilidade de um exame visual na colheita. Pela observação da cor, mais translúcido está relacionada com uma menor concentração de espermatozoides, e pelo contrário, se for mais cremoso tem uma concentração substancialmente mais

elevada. A média total da concentração foi de 700,6 milhões de espermatozoides por ml (desvio padrão 136,15 SPZ/ml). De notar, o volume ejaculado não foi avaliado neste estudo.

A motilidade Massal foi avaliada numa escala de 0 a 5, onde zero é ausência de movimentos e cinco onde existe uns grandes movimentos rectilíneos e progressivos. A média obtida foi de 3,6 (desvio padrão 0,71). Houve animais que foram classificados não aptos devido à ausência destes movimentos e à pequena quantidade de espermatozoides.

A motilidade Individual também é avaliada numa escala de 0 a 5, onde zero é ausência de movimento e cinco temos uma percentagem entre 80% a 100% de movimentos. A média de motilidade individual foi de 3,6 (desvio padrão 0,62). A má avaliação neste exame também levou á reprovação de animais.

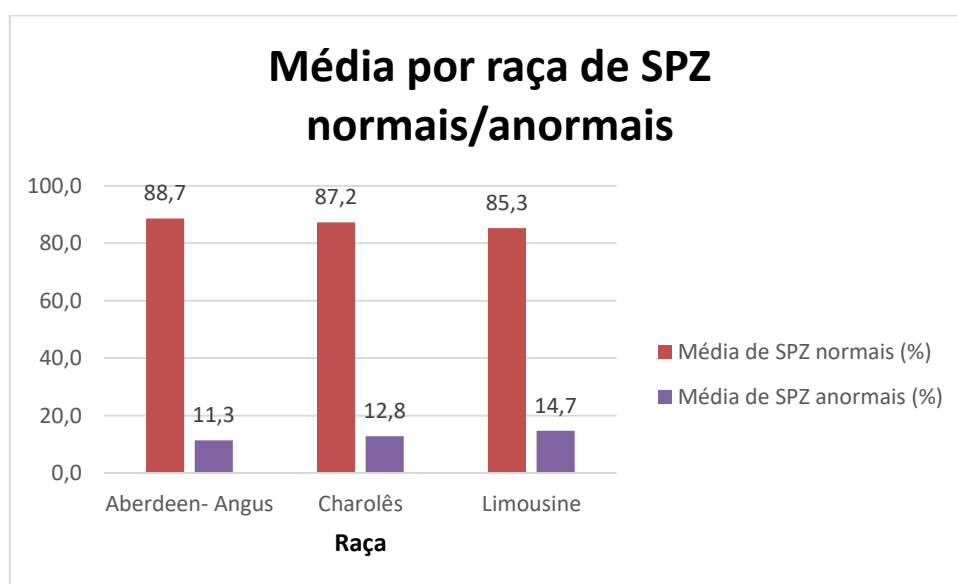


Gráfico 8- Percentagem média de espermatozoides normais e anormais por raça

A nível de espermatozoides normais obteve-se uma percentagem média de 86,5% (desvio padrão 5,93). A percentagem de espermatozoides anormais foi de 13,5% (desvio padrão 5,93). No gráfico 8 estão divididos por raça.

7. Discussão

Neste estudo conforme foi referido acima, analisaram-se 53 touros. Dos quais 28 pertenciam à raça limousine (53%), 15 à raça charolesa (28%) e 10 à raça Aberdeen-Angus (19%).

Analisando a percentagem de touros aptos e não aptos verifica-se que a taxa de refugo foi de 15%, valor que se encontra dentro dos valores normais de acordo com outros estudos (Barth & Waldner, 2002). É normal existirem alterações na percentagem de animais não aptos, pois existem factores como o número de animais, a idade, a raça, o método e os procedimentos utilizados, que influenciam os resultados finais. A nível do exame físico houve 3 touros que foram refugados, um touro criptorquideo, um touro com uma grave claudicação e um touro com dificuldades visuais. Os restantes animais que foram classificados como não aptos não tinham espermatozóides (oligospermia) e em dois animais uma grande percentagem de espermatozóides anormais (mais de 30%).

A média de idade de todos os animais utilizados foi de 45 meses, a raça Charolesa foi a que teve uma média de idades mais alta, cerca de 44,6 meses, a raça Aberdeen – Angus 36,3 meses e a raça limousine cerca de 37,9 meses. Um animal com mais de 7 anos é desaconselhável que seja utilizado para monta natural pois está mais vulnerável a patologias, tem mais probabilidade de se lesionar, de transmitir doenças veneras e outro problema que é a dominância da manada (Chacón *et al.*, 1999). O animal mais velho utilizado neste estudo tinha 120 meses era da raça limousine e foi refugado. Os animais mais novos tinham 18 meses. Neste estudo o factor idade não teve influência nos resultados obtidos, mas os animais mais velhos têm uma maior probabilidade de serem refugados através do E.A., devido a sua maturidade sexual. (Kennedy *et al.*, 2002).

A nível do perímetro escrotal todos os animais à excepção do touro criptorquideo cumpriam a circunferência mínima em relação à sua idade, estes valores já foram referidos acima na tabela 2. Esta medida pode ser influenciada pela condição corporal do animal (Chacón *et al.*, 1999), todos os animais deste estudo tinham uma condição corporal entre 4 e 5 numa escala de 0 a 5. O animal com o maior perímetro tinha 38 cm e era da raça Limousine. A média de circunferência escrotal foi de 36,2 cm, o que já estava previsto e encontra-se no intervalo de medidas obtidas em outros estudos. Esta medida pode ser utilizada para saber se o animal já atingiu a puberdade, a circunferência escrotal também está relacionada com uma maior taxa de fertilidade, uma redução do intervalo entre partos (Waldner *et al.*, 2010), percentagem de

espermatozóides normais, com a produção diária de espermatozóides e com as reservas dos mesmos no epidídimo (Peruma *et al.*, 2017). O gráfico 6 relaciona o perímetro escrotal com a média de idades de cada raça. Com o objectivo de provar a correlação entre os dois aspetos. Seria de esperar que quanto maior fosse a média de idades de cada raça, maior seria o perímetro escrotal. A raça Charolês é o exemplo perfeito, para provar a correlação entre os dois índices estudados. No entanto, a Limousine e a Aberdeen – Angus não apresentam os resultados esperados, segundo Fordyce *et al.* (2013), o perímetro escrotal de touros onde existe uma grande variação nutricional, depende mais do seu peso do que da idade.

A concentração do ejaculado foi o elemento a que se deu menor importância pois é afectada por vários factores (Palmer e Barth, 2003), neste estudo a concentração foi medida utilizando a câmara de Neubauer, este procedimento é demorado e sujeito a erros por parte do operador. A concentração média no estudo foi de 700,6 milhões de espermatozóides por ml. Um ejaculado translucido irá ter em menos de 250 milhões de espermatozóides/ml, enquanto um ejaculado cremoso irá apresentar entre 750 milhões a 1 bilião de espermatozóides/ml (Barth, citado por Palmer e Barth, 2003). Existem métodos mais precisos para a análise de sémen como o sistema CASA.

A motilidade massal e a motilidade individual foram avaliadas numa escala de 0 a 5. A avaliação mínima de aprovação para estes dois parâmetros é de uma classificação igual ou superior a 2. Esta classificação é de difícil avaliação no campo, pois existem factores como a luz, a temperatura, o tempo que a amostra demora a ser avaliada, que influenciam bastante a interpretação deste resultado (Waldneret *et al.*, 2010). A amostra deve ser avaliada o mais rapidamente possível e não deve ser exposta a temperaturas baixas (Waldneret *et al.*, 2010).

A motilidade individual está associada á motilidade massal, a percentagem de espermatozóides normais e a classificação de aprovado ou reprovado. Está também associada à concentração, se a concentração é maior existe uma motilidade massal e individual maior também (Barth, 2000). Se não existir motilidade na amostra não é necessário fazer outro exame.

Neste estudo a inadequada morfologia dos espermatozóides foi a principal causa de refugo dos animais, seguido pela oligospermia e em terceiro lugar alterações ao exame físico, ao contrário de estudos em que a principal causa de refugo foi a baixa circunferência escrotal (Kennedy *et al.*, 2002). Este resultado pode ser explicado porque neste estudo não existiram animais com imaturidade sexual.

A circunferência escrotal média da raça Aberdeen Angus é 36,7cm (desvio padrão 0,9), o que se encontra acima da média (34,4cm), a raça Charolesa tem uma média de 36cm (desvio padrão 0,9) e também se encontra acima da média para a raça (34,55cm) quanto a raça Limousine teve uma media de 36,1cm (desvio padrão 1,4), o que também se encontra acima dos valores médios (31,52cm) (Guerra et al., 2013). Com estes resultados podemos concluir que não existiu correlação com os animais não aptos.

Quando se analisa o gráfico 6, tomando a raça Charolesa como exemplo, confirma-se a teoria de uma correlação directa da média de idades com a circunferência escrotal dos animais (Bart & Waldner, 2002), ou seja, quanto maior o perímetro escrotal maior será a média de idades. Como já foi dito a circunferência escrotal pode variar com a idade do animal e esta é definida aos 20 meses. (Chenoweth & Kastelic, 2007). Relacionando isto com a média de idades (39,1 meses) podemos concluir que a maior parte dos animais já tinha a sua circunferência definida.

As medidas do perímetro escrotal constituem um indicativo eficiente do potencial reprodutivo e de predição da produção de espermatozóides de ruminantes (Borghain et al. 1983; Johnson et al., 1994). Hahn et al. Verificou uma correlação positiva entre a medida do perímetro escrotal e a concentração espermática ($r = 0,81$). O gráfico 7 relaciona o perímetro escrotal com a média de concentração espermática, a raça Charolesa comprova a teoria de quanto maior for o perímetro escrotal, mais probabilidade terá o animal de ser bem-sucedido na reprodução, pela maior quantidade de espermatozóides.

A motilidade também pode ser influenciada pela óptica microscópica, ampliação, temperatura, pelo modo de preparação da amostra e pela concentração espermática (Brito, 2016).

A concentração da amostra também é afectada pela diluição da amostra, e pelos componentes da camara de contagem, pela má colocação da lamela ou pelo estado da mesma, também pode existir um deficiente enchimento da camara e um incorreto método de contagem (Brito, 2016). O problema seria resolvido com um menor risco de erro se o estudo tivesse sido realizado com o sistema CASA.

Para avaliação da morfologia foi efectuado um esfregaço corado com eosina-nigrosina e foi observado num microscópio de contraste de fase. O microscópio de campo claro tem uma maior sensibilidade para detecção de alterações menores enquanto um microscópio de contraste de fase tem uma maior sensibilidade de detecção de alterações maiores (Freneau et al., 2010).

A motilidade massal, a motilidade individual, a percentagem de espermatozóides, anomalias primárias e secundárias estão altamente associadas a classificação de apto e não apto. As alterações ao exame físico também estão associadas á classificação apto/não apto, tal como está descrito (Brath & Waldner, 2002). Também está descrito que o baixo volume e a concentração podem ser critérios de refugo, mas estes são influenciáveis pelo método de recolha do ejaculado. Contudo a baixa concentração está relacionada com oligospermia (Palmer e Barth, 2003).

A concentração média esperada era de 800 a 2000 milhões de espermatozóides por ml (Hafez et al., 2000).

Com o uso de eosina-nigrosina, podemos saber da integridade da membrana e da viabilidade do espermatozóide, pois a eosina penetra nos espermatozóides não viáveis, isto é ficam corados de cor-de-rosa (Nöthling e Irons, 2008).

A percentagem de anomalias foi de 13,5% (desvio padrão 5,93), está muito longe do limite (30%). A percentagem de espermatozóides normais é mais baixa em animais jovens, pois estes ainda não atingiram a maturidade sexual, também é mais baixa em animais mais velhos estes pelo contrário já ultrapassaram o pico sexual (Waldner et al., 2010)

É possível estabelecer uma correlação entre o tipo de alteração morfológica e o local onde a mesma teve origem (Barth e Oko, 1989). O espermograma também nos pode dar indicação acerca do período de tempo que decorre entre a alteração até a obtenção de um ejaculado com melhor morfologia (Nöthling e Irons, 2008). Quando a causa é desconhecida a correlação desse período de tempo é desconhecida, se o período de tempo for muito longo a morfologia associada à alteração é grave, semanas a meses quando a morfologia indica degenerescência testicular associada a causa autolimitada (Nöthling e Irons, 2008). Minutos a dias se existe elevada percentagem de espermatozóides senescentes. Outros defeitos que ocorram e que afectem um elevado número de espermatozóides podem indicar uma causa hereditária e ter um mau prognóstico.

A idade também não teve correlação com os animais não aptos, ao contrário do que Kennedy apresenta no seu estudo, os animais mais velhos têm menor probabilidade de serem reprovados no exame andrológico, pois estes já atingiram a maturidade sexual, este resultado pode justificar-se devido à média de idade da amostra (39,5 meses).

8. Conclusões

Este trabalho teve como objetivo comprovar a importância do papel do touro no contexto reprodutivo, pois geralmente este é desprezado pelos proprietários. Visto que, o refugo de um macho tem mais impacto econômico na exploração do que o de uma fêmea, por existirem menos machos do que fêmeas e isso implica alterações para maior ou menor rácio touro/vaca.

Como esse estudo comprovou-se a importância da realiza o do exame andrológico não só para a aquisi o de novos machos, como para testar o bom desempenho dos touros que já se encontram na vacada. Dentro do E.A. o espermograma demonstrou-se determinante, pois   essencial para a aprova o ou reprova o do animal. Pelo contrário, a circunferência escrotal, o volume de ejaculado, a concentra o e a idade não tiveram qualquer rela o com a aprova o ou reprova o do touro.

Além disso, foi possível mais uma vez comprovar o que já relata na literatura de que a motilidade individual e a motilidade massal estão correlacionadas com a percentagem de espermatozóides normais, com os espermatozóides anormais e com a concentra o do ejaculado.

Portanto, por meio deste estudo foi possível concluir que o E.A.   importantíssimo na fertilidade porque através do exame físico anat mico e dos diversos parâmetros da avalia o do s men, podemos diagnosticar touros subfertes e refugar animais que não obtenham os parâmetros desejados.

Bibliografia

- Aguiar, G.V., Araújo, A.A., e Moura, A. de A.A. (2006). Desenvolvimento testicular, espermatogénese e concentrações hormonais em touros Angus. *Rev. Bras. Zootec.* 35, 1629–1638.
- Alexander, JH., (2008). Bull breeding soundness evaluation: A practitioner's perspective. *Theriology.* n.73, p. 469-472.
- Amann, R. P., & Schanbacher, B. D. (1983). Physiology of male reproduction. *Journal of animal science*, 57 Suppl 2, 380–403. [https://doi.org/10.1016/0022-4731\(81\)90068-6](https://doi.org/10.1016/0022-4731(81)90068-6)
- Arruda, *et al.*, (2015). Morfologia espermática de touros: interpretação e impacto na fertilidade. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, v.39, n.1, p.47-60.
- Arteaga, A., Baracaldo, M., & Barth, A. D. (2001). The proportion of beef bulls in western Canada with mature spermograms at 11 to 15 months of age. *Canadian Veterinary Journal*, 42(10), 783–787.
- Arthur, GH., Noakes, DE., Pearson, H., Parkinson, TJ., (1996). *Veterinary Reproduction & Obstetrics.* (7ª ed.). London. Saunders Company Limited.
- Ball, P. J. H., & Peters, A. R. (2006). Fertilidade do Touro. In *Reprodução em Bovinos* 3ª Edição ed. Ball, P. J. H. & Peters, A. R., Roca, São Paulo, pp. 27–37.
- Barbosa, CP., Oliveira, WC., Ribeiro, WR., (2011). Comparação entre as principais técnicas de análise da concentração espermática em exames andrológicos de touros a campo. *PUBVET*, Londrina, v.5, n.16.
- Barbosa, RT., Machado, R., Bergamaschi, MACM., (2005). A importância do exame andrológico em bovinos [Versão electrónica]. Embrapa. Acedido a 20 Setembro de 2018 em <http://infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/47256/1/Circular41.pdf>.
- Bagu, E.T., Cook, S.J., Honaramooz, A., Aravindakshan, J.P., Huchkowsky, S., e Rawlings, N.C. (2006). Changes in serum luteinizing hormone (LH) concentrations in response to luteinizing hormone releasing hormone (LHRH) in bull calves that attained puberty early or late. *Theriogenology* 66, 937–944.
- Ball, P.J.H., e Peters, A.R. (2004). Bull Fertility. In *Reproduction in cattle* (Oxford: Blackwell Publ.), 3ª ed. 28-39.

Barth, AD., Oko, R.J., (1989). *Abnormal Morphology of bovine Spermatozoa*. (1ª ed.) Iowa. State University Press.

Barth, A. D. (2000). *Bull breeding soundness evaluation* (2.a ed.). (S.I.) : The Western Canadian Association of Bovine Practitioners

Barth, AD., Waldner, CL., (2002). Factors affecting breeding soundness classification of beef bulls examined at the Western College of Veterinary Medicine. *Canadian Veterinary Journal*. v.43, p.274-284.

Batista, JN., Borges, LD., Lima, LA., Souza, BB., Silva, EMN., (2015). Termorregulação em ruminantes [Versão electrónica]. *Revista Agropecuária Científica no Semiárido*, v. 11, n. 2, p. 39- 46. Acedido a 29 de Janeiro de 2019 em [file:///C:/Users/Utilizador/Downloads/674-2452-1-PB%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/Utilizador/Downloads/674-2452-1-PB%20(1).pdf).

Batista, JN., Borges, LD., Lima, LA., Souza, BB., Silva, EMN., (2015). Termorregulação em ruminantes [Versão electrónica]. *Agropecuária Científica no Semiárido*. v.11, n.2, p. 39-46. Acedido a 26 de Janeiro de 2019 em [file:///C:/Users/Utilizador/Downloads/674-2452-1-PB%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/Utilizador/Downloads/674-2452-1-PB%20(2).pdf).

Batista, T., (2008). Conselhos práticos para a escolha de touros reprodutores de raça charolesa. *Boletim informativo Raça Charolesa*. p. 18-20.

Bettencourt, E., Romão, R., (2009). *Exame do Touro Reprodutor*. Évora. Repositório da Universidade de Évora. [Versão electrónica]. Acedido a 20 de Setembro de 2018 em www.dspace.uevora.pt/rdpc/handle/10174/10268.

Bicudo, SD., Siqueira, JB., Meira, C., (2007). Patologias do sistema reprodutor de touros. *Biológico*. v.69, n.2, p. 43-48.

Boockfor, F.R., Barnes, M.A., e Dickey, J.F. (1983). Effects of unilateral castration and unilateral cryptorchidism of the Holstein bull on in vitro Leydig cell response. *J. Anim. Sci.* 56, 1386–1392.

Bourdon, R.M., e Brinks, J.S. (1986). Scrotal circumference in yearling Hereford bulls: adjustment factors, heritabilities and genetic, environmental and phenotypic relationship with growth traits. *J. Anim. Sci.* 62, 958–967.

Brito, L. F. C., Althouse, G. C., Aurich, C., Chenoweth, P. J., Eilts, B. E., Love, C. C., ... Waberski, D. (2016). Andrology laboratory review: Evaluation of sperm concentration.

Catita, D., (2013). Como escolher um touro de uma vacada?. Notícias Limousine. Associação Portuguesa de Criadores da Raça Bovina Limousine. n.21. p. 48-50.

Chacón, J., Pérez, E., Müller, E., Söderquist, L., & Rodríguez-Martínez, H. (1999). Breeding soundness evaluation of extensively managed bulls in Costa Rica. *Theriogenology*, 52(2), 221–231. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(99\)00124-7](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(99)00124-7)

Chacur, MGM., Araújo, MC., Knouka, SN., (2006). Características seminais, corpóreas e anatômicas do aparelho reprodutor de reprodutores da raça Canchim aos 14 a 48 meses de idade. *Arquivo de Ciências Veterinárias da UNIPAR*, v. 9, p. 21-27.

Chacur, MGM., Araújo, MC., Kronka, S., (2006). Características seminais, corpóreas e anatômicas do aparelho reprodutor de reprodutores da raça Canchim aos 14 e 48 meses de idade. *Arquivo de ciências veterinárias e zoologia. UNIPAR*. v.9, n.1, p. 21-27.

Chenoweth, P.J., e Kastelic, J.P. (2007). *Clinical Reproductive Physiology and Endocrinology of Bulls*. In *Current Therapy in Large Animal Theriogenology* (St. Louis, Mo.: Saunders Elsevier), 2^a ed. 221-228.

Costa, DF., Souto, DVD., Rocha, EF., Guimarães, LJ., Silva, MR., Souza, BB., Silva, GA., (2015). Influência do estresse calórico na fisiologia hormonal de bovinos [Versão electrónica]. *Agropecuária Científica no Semiárido*. v.11, n.2, p. 33-38. Acedido a 26 de Janeiro de 2019 em [file:///C:/Users/Utilizador/Downloads/662-2446-1-PB%20\(3\).pdf](file:///C:/Users/Utilizador/Downloads/662-2446-1-PB%20(3).pdf).

Costa, DF., Souto, DVO., Rocha, EF., Guimarães, LJ., Silva, MR., Souza, BB., Silva, GA., (2015). Influência do estresse calórico na fisiologia hormonal de bovinos [Versão electrónica]. *Revista Agropecuária Científica no Semiárido*, v. 11, n. 2, p. 33-38. Acedido a 28 de Janeiro de 2019 em [file:///C:/Users/Utilizador/Downloads/662-2446-1-PB%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/Utilizador/Downloads/662-2446-1-PB%20(2).pdf).

Costa, LL., Silva, JR., (2010). Avaliação da função reprodutiva do touro para sistemas de produção em extensivo. Componente da avaliação, protocolos e guia de interpretação. *XIV Jornadas da Associação Portuguesa de Buiatria*. 23-25 de Abril 2010. Elvas.

Cruz, F. B., Lohn, L., Marinho, L. S. R., Mezzalira, J. C., Neto, S. G., Martins, L. T., ... Mezzalira, A. (2011). Internal artificial vagina (IAV) to assess breeding behavior of

young *Bos taurus* and *Bos indicus* bulls. *Animal Reproduction Science*, 126(3–4), 157–161. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.06.003>

Fava, C., Pituco, EM., Genovez, ME., (2007). Diagnóstico diferencial de doenças da reprodução em bovinos: experiência do instituto biológico. *Biológico*. v.69, n.2, p. 73-79.

Fonseca, V.O., Cridelli, G.A., Costa e Silva, E.V., Hermanny, A., (1992). Aptidão reprodutiva de touros da raça Nelore. Efeito de diferentes estações do ano sobre as características seminais, circunferência escrotal e fertilidade. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.44, n.1, p.7-15.

Foot, RH., (2003). Fertility estimation: a review of past experience and future prospects. *Animal Reproduction Science*. n.75, p. 119-139.

Fordyce, G., Fitzpatrick, L. A., Cooper, N. J., Doogan, V. J., De Faveri, J., & Holroyd, R. G. (2002). Bull selection and use in northern Australia 5. Social behaviour and management. *Animal Reproduction Science*, 71(1–2), 81–99. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(02\)00027-1](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(02)00027-1)

Frandsen, R.D., Wilke, W.L., e Fails, A.D. (2009). Physiology of Male Reproduction. In *Anatomy and Physiology of Farm Animals* (Wiley-Blackwell), 7ª ed. 413-419.

Freneau, GE., Chenoweth, PJ., Ellis, R., Rupp, G., (2009). Sperm morphology of beef bulls evaluated by two different methods. *Animal Reproductive Science*. n.118, p. 176-181.

Freneau, G. E., Chenoweth, P. J., Ellis, R., & Rupp, G. (2010). Sperm morphology of beef bulls evaluated by two different methods. *Animal Reproduction Science*, 118(2–4), 176–181. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2009.08.015>

Gabaldi, S.H., Wolf, A.A. (2002). Importância da termorregulação testicular na qualidade do sêmen em touros. *Revista Ciências Agrárias e da Saúde, Andradina*: v.2, n.2, p.66-70.

Garner, D. L., & Hafez, E. S. E. (2004). Espermatozoides e Plasma Seminal. In *Reprodução Animal 7ª Edição* ed. Hafez, E. S. E. & Hafez, B., Manole, Barueri, pp. 97–110.

Grooms, DL., (2004). Reproductive consequences of infection with bovine viral diarrhoea virus. *Veterinary Clinician of North America: Food Animals Practice*. v.20, p.5-19.

Grossman, Robert Getty e Septimus Sisson (2000). Anatomia dos animais domésticos (5 ed). Brasil. Nova Guanabara.

Guimarães, JD., (2017). Exame do potencial de fertilidade de touro: apto ou inapto à reprodução é suficiente? [Versão electrónica]. Anais da 2º Reunião da associação Brasileira de Andrologia Animal. p. 44-48. Acedido a 25 Janeiro de 2019 em <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/164360/1/DOC-146-.pdf>.

Hafez, E. S. E., Jainudeen, M. R., & Rosnina, Y. (2004). Hormônios, Fatores de Crescimento e Reprodução. In Reprodução Animal 7 a Edição ed. Hafez, E. S. E. & Hafez, B., Manole, Barueri, pp. 33–53.

Hafez, ESSE., Hafez, B., (2000). Reproduction in Farm Animals. (7ª ed.). Philadelphia. Lippincott William & Wilkins.

Hoflack, G., Van Soom, A., Maes, D., de Kruif, A., Opsomer, G., e Duchateau, L. (2006). Breeding soundness and libido examination of Belgian Blue and Holstein Friesian artificial insemination bulls in Belgium and The Netherlands. *Theriogenology* 66, 207–216.

Hopper, RM., (2015). Bovine Reproduction. (1ª ed). Oxford. John Wiley & Sons, Inc.

InCalf. (2008). Bulls power up! Adviser Handbook.

Kanazawa, MY., Scott, C., Wilges, CH., Dias, LGGG., Souza., FF., (2012). Correlação da circunferência escrotal, citologia testicular e parâmetros do sémen do epidídimo de touros [Versão electrónica]. Enciclopédia Biosfera. v.8, n.15, p. 517-527. Acedido a 25 de Setembro de 2018 em www.conhecer.org.br.

Kennedy, S. P., Spitzer, J. C., Hopkins, F. M., Higdon, H. L., & Bridges, W. C. (2002). Breeding soundness evaluations of 3648 yearling beef bulls using the 1993 Society for Theriogenology guidelines. *Theriogenology*, 58(5), 947–961. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(02\)00911-1](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(02)00911-1)

Konig, HE, Leibich, HG., (2004). Anatomia dos animais domésticos. v.2. Porto Alegre: Artmed, pp. 399.

Kudryavtsev, I. V., Safronova, L. D., & Kudryavtsev, P. I. (2003). Genetic Control of Spermatogenesis and Sex Determination in Mammals. *Russian Journal of*

Lata Jain, V., Kanani, A. N., Patel, T. J., Purohit, J. H., Jhala, M. K., Joshi, C. G., Chandel, B. S., Chauhan, H. C. (2008). Detection of bovine herpesvirus 1 (BHV-1) infection in semen of breeding bulls of Gujarat by a direct fluorescence test. *Buffalo Bulletin*, Bangkok, v.27, n. 2, p.202-206, 2008.

Loaiza-Echeverri, A.M., Bergmann, J.A.G., Toral, F.L.B., Osorio, J.P., Carmo, A.S., Mendonça, L.F., Moustacas, V.S., e Henry, M. (2013). Use of nonlinear models for describing scrotal circumference growth in Guzerat bulls raised under grazing conditions. *Theriogenology* 79, 751–759.

Lone, SA., Paray, AR., Mir, SH., Ganale, BA., Sinha, R., Singh, P., (2017). Breeding Soundness Evaluation in Bulls: A Review [Versão electrónica]. *Biomed J Sci & Tech Res*. v.1, n.5. Acedido a 26 de Setembro de 2018 em <http://biomedres.us/submit-manuscript.php>.

Lunstra, D.D., Ford, J.J., e Echternkamp, S.E. (1978). Puberty in beef bulls: hormone concentrations, growth, testicular development, sperm production and sexual aggressiveness in bulls in different breeds. *J. Anim. Sci.* 46, 1054–1062.

Martins, MV., Rodrigues, JV., Duarte, S., Carvalho, JN., (2017). Baixa fertilidade em touros no interior centro e sul de Portugal. *Revista de Ciências Agrárias*. v.40, p. 385-391.

Mello, CR., Ferreira, JE., Mello, MRB, Palhano, HB., (2016). Influência do manejo na fisiologia reprodutiva do macho bovino. *Arquivo Ciências Veterinárias e zoologia UNIPAR*. v.9, n.1, p. 57-63.

Miranda, TN., Castilho, EF., Pinho, RO., Guimarães, SEF., Eduardo Paulino da Costa, EP., Guimarães, JD., (2011) Puberdade e maturidade sexual em touros jovens da raça Simental, criados sob regime extensivo em clima tropical. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 40, n. 9, p. 1917-1924.

Moraes, JCF., Hom, MM., Rosado, AG., (1998). Exame andrológico em touros: qualidade dos indicadores de aptidão reprodutiva em distintos grupos raciais. *Ciência Rural*. n.28, p. 647-652.

Nabors, B., & Linford, R. (2015). Anatomy of the reproductive system of the bull. Em R. (Mississippi S. U. Hopper (Ed.), *Bovine Reproduction* (1.a ed., pp. 5–10). Starkville :

Wiley Blackwell.

Newcomer, B. W., & Givens, D. (2016). Diagnosis and Control of Viral Diseases of Reproductive Importance: Infectious Bovine Rhinotracheitis and Bovine Viral Diarrhea. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 32(2), 425–441.

Nicacio, AC., (2014). Porque realizar exame andrológico? [Versão electrónica]. Embrapa. Acedido a 20 de Setembro de 2018 em <http://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/2159041/artigo-por-querealizar-exame-andrologico>.

Noakes, DE., Parkinson, TJ., England, GCW., (2001). Fertility and infertility in male animals. In Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics. (8º ed.). London. W. B. Saunders.

Nothing, J. O., & Irons, P. C. (2008). A simple multidimensional system for the recording and interpretation of sperm morphology in bulls. *Theriogenology*, 69(5), 603–611.

Palmer, C. W. (2016). Management and Breeding Soundness of Mature Bulls. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 32(2), 479–495. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2016.01.014>

Palmer, C.W., e Barth, A.D. (2003). Comparison of the BullMate™ sperm quality analyzer with conventional means of assessing the semen quality and breeding soundness of beef bulls. *Anim. Reprod. Sci.* 77, 173–185.

Parkinson, TJ., (2004). Evaluation of fertility and infertility in natural servisse bulls. *Veterinary Journal*. n. 168, p. 215-229.

Perumal, P., Savino, N., Sangma, C. T. R., Chang, S., Sangtam, T. Z. T., Khan, M. H., ... Srivastava, N. (2017). Effect of season and age on scrotal circumference, testicular parameters and endocrinological profiles in mithun bulls. *Theriogenology*, 98, 23–29. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.04.049>

Rabelo, RE., Vulcani, VAS., Cardoso., LD, Dutra., (2012). Aspectos Anatômicos e sua relação com as enfermidades do prepúcio e pênis no Touro. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*. Ano IX. n.18.

Rawlings, N., Evans, A., Chandolia, R., e Bagu, E. (2008). Sexual maturation in the bull. *Reprod. Domest. Anim.* 43, 295–301.

- Romano, J. E., & Brinsko, S. P. (2013). Reproductive Physiology of the Male. In Cunningham's Textbook of Veterinary Physiology 5th Edition ed. Klein, B. G., Elsevier, St. Louis - Missouri, pp. 451–459.
- Romão, R., Cargaleiro, K., Martelo, R., Paralta, D., Carolino, N., Bettencourt, E., (2012). Resultados de exames andrológicos em touros de aptidão creatopoiética no sul de Portugal. Comunicação apresentada no VIII Congresso Ibérico sobre Recursos Genéticos Animais, Évora, Portugal.
- Russel, L.D., Ettlin, R.A., Sinhaffikim, A.P. et al. (1990). Histological and histopathological evaluation of the testis. Clearwater: Cache River. 286p.
- Ryan, P. L. (2015). Endocrine and Exocrine Function of the Bovine Testes. In Bovine Reproduction 1st Edition ed. Hopper, R. M., Wiley Blackwell, Iowa, pp. 11–25.
- Senger, P.L. (2005). Pathways to Pregnancy and Parturition (Current Conceptions, Inc.), 2ª ed. 44-143; 214-283.
- Siddiqui, M., Bhattacharjee, J., Das, Z., Islam, M., Islam, M., Haque, M., Parrish, J., e Shamsuddin, M. (2007). Crossbred bull selection for bigger scrotum and shorter age at puberty with potentials for better quality semen. *Reprod. Domest. Anim.* 43, 74-79.
- Silva, AR., Ferraudo, AS., Perecin, D., Lima, VFMH., (2009). Efeito da idade do touro e do período de colheita de sémen sobre as características físicas e morfológicas do sémen de bovinos de raças europeias e zebuinas. *Revista Brasileira de Zootecnia.* v.38, n.7, p.1218-1222.
- Silva, R., (2009). O touro de monta natural. *Noticias Limousine. Associação Portuguesa de criadores de Bovinos da Raça Limousine.* n.19, p. 74-75.
- Silva, TR., Borges, MHF., Bernardo, GM., Galdioli, VHG., Matias, BF., Fávares, PC., Júnior, FAB., Lanzon, LF., Júnior, CK., (2016). Correlação entre o perímetro escrotal e a idade em touros Aberdeen Angus. *Uniciências.* v.20, n.2, p. 107-109.
- Simões, JPC. (2008). Exame andrológico de bovinos [Versão electrónica]. Acedido a 29 de Agosto de 2018 em <http://www.bovinoalentejano.com.pt>.
- Straub, OC., (1990). Infectious bovine rhinotracheitis vírus. In Dinter & Morim (eds). *Virus infections of ruminants.* Amsterdam. Elsevier Science Publishers, p.71-108.
- Valle, ER., Andreotti, R., Thiago, LRL., (1998). Estratégias para aumento da eficiência reprodutiva e produtiva em bovinos de corte [Versão electrónica]. Embrapa. Acedido a 29 de Agosto de 2018 em <http://www.embrapa.br>.

Waldner, C. L., Kennedy, R. I., & Palmer, C. W. (2010). A description of the findings from bull breeding soundness evaluations and their association with pregnancy outcomes in a study of western Canadian beef herds. *Theriogenology*, 74(5), 871–883.

Obtido de <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.04.012>

Wyler, R., Engels, M., Schwyzr, M., (1990). Infectious bovine rhinotracheitis/vulvovaginites (BHV-1). In: Herpesvirus diseases of cattle, horses and pigs. London: Academy. p.1-7.

Wolf, F.R., Almquist, J.O., e Hale, E.B. (1965). Pubertal behaviour and pubertal characteristics of beef bulls on high nutrient allowance. *J. Anim. Sci.* 24, 761–765.

Youngquist, RS., Threlfall, WR., (2007). *Large Animal Theriogenology*. (2^a ed.). St. Louis. Saunders Elsevier.