

RELAÇÃO ENTRE O COMPRIMENTO DA BAINHA MITOCONDRIAL DA CAUDA DO ESPERMATOZOIDE, FERTILIDADE E CARACTERÍSTICAS PRODUTIVAS EM TOUROS UTILIZADOS EM INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL

Izabely Pereira Gomes¹
Jair Sábio de Oliveira Junior²
Eriklis Nogueira³

RESUMO: Sob o ponto de vista reprodutivo, a fertilidade em machos interfere direta e indiretamente na expressão dos índices zootécnicos e deve ser de fácil mensuração e aplicação direta nos rebanhos. O comprimento da peça intermediária do espermatozoide (PI), ocupada pela bainha mitocondrial (BM), é a responsável pela produção de energia do espermatozoide, pois nesta é onde há maior concentração de mitocôndrias. Este trabalho tem como objetivo identificar a relação entre a bainha mitocondrial como marcador de fertilidade e características produtivas de touros da raça nelore, utilizados em IATF. Foram medidas as peças intermediárias de 100 espermatozoides por cada amostra de sêmen, de 30 touros da raça nelore, avaliados pelo programa Geneplus-Embrapa. Além das mensurações da PI, foram analisados os parâmetros seminais das amostras pós descongelamento. A motilidade do TTRL (teste de termorresistência lento) apresentou correlação significativa com o vigor do TTRL e, a peça intermediária apresentou correlação significativa ($P < 0,05$) com as DEPs de: idade ao primeiro parto (IPP); perímetro escrotal (PES); herdabilidade de permanência (HP/stay%); peso ao nascer (PN) e consumo alimentar residual (CAR). Assim, a peça intermediária (PI), mostrou correlações positivas com a qualidade espermática, e com os dados de DEPs (diferenças esperadas na progênie) relacionadas as características produtivas de touros da raça nelore.

Palavras-chave: Peça intermediária, melhoramento genético, DEPs.

4163

ABSTRACT: From the reproductive point of view, male fertility interferes directly and indirectly in the expression of zootechnical indices and must be easily measured and directly applied in herds. The length of the sperm intermediate piece (IP), occupied by the mitochondrial sheath (MS), is responsible for the production of sperm energy, as this is where there is the highest concentration of mitochondria. This work aims to identify the relationship between the mitochondrial sheath as a fertility marker and productive characteristics of Nelore bulls used in FTAI. The intermediate pieces of 100 sperm were measured for each semen sample, from 30 Nelore bulls, evaluated by the Geneplus-Embrapa program. In addition to the IP measurements, the seminal parameters of the samples after thawing were analyzed. TRT motility (slow heat resistance test) showed a significant correlation with TRT vigor. The midpiece showed a significant correlation ($P < 0,05$) with the EPDs of: age at first calving (AFC); scrotal circumference (SP); heritability of stay (stayability %); birth weight (BW) and residual food intake (RFI). Thus, the intermediate piece (IP) showed positive correlations with sperm quality, and with the EPD data (expected differences in progeny) related to the productive characteristics of Nelore bulls.

Keywords: Intermediate piece, genetic improvement, EPDs.

¹ Graduanda do Curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário Maurício de Nassau de Cacoal -UNINASSAU.

² Médico Veterinário pela Universidade Estadual de Londrina - UEL, Mestre em Zootecnia pela Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul - UEMS, Prof do Curso de Graduação em Medicina Veterinária do Centro Universitário Maurício de Nassau de Cacoal - UNINASSAU.

³ Médico Veterinário pela Universidade Federal do Mato Grosso do Sul - UFMS, Pós-Doutorado em Reprodução Animal pela Universidade do Missouri - Columbia, Pesquisador do Centro de Pesquisa Agropecuária do Pantanal e Gado de Corte, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA.

I. INTRODUÇÃO

Sob o ponto de vista reprodutivo, a fertilidade em machos interfere direta e indiretamente na expressão dos índices zootécnicos e, deve ser de fácil mensuração e aplicação direta nos rebanhos. O comprimento da parte mediana da cauda do espermatozoide (peça intermediária- PI), ocupada pela bainha mitocondrial (BM), é a responsável pela produção energética do espermatozoide, pois nesta é onde há maior concentração de mitocôndrias (MARTINS; DODE; SILVA, 2016).

Em espermatozoides de camundongo das espécies *P. maniculatus* e *P. polionotus*, o comprimento da peça intermediária (PI) apresenta relação com a produtividade, pois espermatozoides que apresentaram a peça intermediária mais longa, obtiveram resultados de velocidade de deslocamento e sucesso reprodutivos maiores (FISHER et al., 2016). Além dessas espécies, em camundongos domésticos (FIRMAN et al., 2010), salmão (VLADIC et al., 2002) e aves passeriformes (LUPOLD et al., 2008) também foi encontrada relação entre comprimento de PI e fertilidade.

Gu et al., (2019) cita que em 10 espécies de mamíferos (humano, camundongo, rato, cão, coelho, cabra, porco, touro, cobaia e hamsters dourado) que as áreas de seção transversal da bainha mitocondrial apresentam íntima relação com o comprimento da peça intermediária, peça total e flagelo total, e com a velocidade com que os espermatozoides se movimentam. De acordo com este estudo o volume de mitocôndrias correlaciona-se com o volume de ATP, e conseqüentemente com a velocidade de natação dos espermatozoides.

O tamanho da peça intermediária mostrou relação com o tempo de deslocamento espermático em peixes das espécies *Brycon orbignyanus*, *Rhamdia quelen* e *Brycon hilarii*, onde se observou-se que quanto maior a peça intermediária, menor será o tempo até atingir o óvulo (MOJICA, 2004).

Um estudo recente realizado em touros da raça Nelore e Angus encontrou correlação entre o comprimento peça intermediária e as taxas de fertilidade após IATF em vacas Nelore, afirmando que a bainha mitocondrial influencia na fertilidade, como visto em outras espécies de animais (WILEY et al., 2019). Não se sabe ainda se tal parâmetro pode ser utilizado como marcador de parâmetros produtivos na progênie de touros nelore.

O processo de fertilização abordado em literaturas antigas, descrevem que no momento de fecundação do espermatozoide com o óvulo, apenas o núcleo espermático penetra no óvulo, e as estruturas adjacentes da cauda, como os centríolos e peça

intermediária permanecem para fora do oócito. Dessa forma a única herança mitocondrial que são herdadas pelas progênes é a de herança materna, logo que as mitocôndrias presentes na peça intermediária não entram no oócito. Entretanto, as literaturas recentes mostram que nos mamíferos toda estrutura espermática penetra o oócito, inclusive a peça intermediária contendo a herança mitocondrial paterna (ALBERTS et al., 2008).

Portanto o objetivo deste trabalho é avaliar a relação entre o comprimento da bainha mitocondrial como marcador de fertilidade e características produtivas de touros da raça nelore utilizados em IATF.

1.1 PRODUÇÃO BRASILEIRA

Com aproximadamente 218,23 milhões de cabeça, o Brasil vem se destacado na produção de bovinos (IBGE,2016). Sendo o Brasil um dos principais contribuintes para o mercado global de carne bovina e, essa produção vem se aumentando cada vez mais, sendo que entre 2016 e 2019 apresentou um número de abates crescente, contudo no ano de 2020 observou-se uma queda na produção, no qual teve como resultado em 29,7 milhões de abates de bovinos. O estado do Mato Grosso conta como primeiro lugar na liderança de maior produtor do Brasil, no qual este conta com abate acima de 4,85 milhões de cabeças, seguidos por Mato grosso do Sul e Goiás (MALAFAIA et al., 2021).

Segundo a Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne (ABIEC,2020) o Brasil apresentou um PIB de 7,4 trilhões de reais, na qual a pecuária apresentou 726,68 bilhões de reais do montante total, em que comparado com o ano anterior teve o crescimento de 11,8%. No ano de 2020 foram produzidos 10,10 milhões de toneladas de carcaça de carne bovina, onde 5,9 para consumo interno (74%) e 2,7 para consumo dos mercados externos (26%).

Nos últimos cinco anos o Brasil se tornou o maior exportador mundial de carne bovina, no ano de 2020 a balança comercial das exportações brasileiras somou 100,81 bilhões de dólares, comparando com 2019 um acréscimo de 4,1%. O setor adquiriu 87,76 bilhões de dólares devido ao aumento das exportações e queda das importações (MAPA, 2021).

De acordo com a Associação Brasileira de Inseminação Artificial (ASBIA, 2021) a genética brasileira vem crescendo cada dia mais, em prestação de serviços, vendas e exportação de sêmen; No ano de 2021 a saída de doses de sêmen atingiu 28.706.330 doses, tendo aumento de 21% comparado com o ano de 2020 que foram vendidas 23.705.584 de doses;

A exportação de sêmen aumentou em 70%, sendo que em 2020 foram exportados 508.096 doses de sêmen, e em 2021 teve um crescimento de 357.641 doses, totalizando 865.737 doses; Foram destinadas 2.390.636 doses para a prestação de serviço em 2021, que comparada com 2020 teve aumento de 47%, que neste foram totalizadas 1.621.937 doses. Vale ressaltar que é as raças de corte que vem ganhando destaque, registrando um aumento de 22% de vendas, já o setor leiteiro teve o crescimento de apenas 6%. Como teve aumento no número de vendas de sêmen, é notório que as coletas de sêmen também tiveram seu crescimento, sendo que em 2020 foram coletadas 14.899.623 doses, e em 2021 23.919.732 doses coletadas em todo país.

Nos dias atuais a inseminação Artificial em tempo fixo (IATF) vem se tornando a principal biotecnologia empregada nos rebanhos bovinos brasileiros. Essa biotecnologia gera um impacto econômico enorme na produção de bovinos, aumentando ainda mais o ganho genético desses animais. No ano de 2021 a inseminação artificial foi aplicada em 4.463 mil municípios brasileiros, onde o alcance desta biotecnologia comparada com 2020, teve um aumento significativo de 4,1% (ASBIA, 2021). A IATF tem crescimento anual em torno de 20 a 30%, sendo sua maior concentração nos Estados de Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, Pará e no Norte do Brasil. O Brasil compreende o maior mercado de IATF do mundo, posto que sua utilização tem maior predominância no gado de corte (ROCHA & RIBEIRO, 2011).

4166

1.2 MELHORAMENTO GENÉTICO

Segundo Alencar (2004) o melhoramento genético se caracteriza pela mudança na composição genética das populações, utilizando como estratégias principais a seleção e os sistemas de acasalamentos. Tais características examinam as variabilidades biológicas dos animais dentro de cada espécie. A finalidade principal do melhoramento genético é o aperfeiçoamento do desempenho médio dos animais, nas próximas gerações, por meio de mudanças genéticas das populações (YOKOO et al., 2019), de forma que traga melhorias nos níveis de produção, produtividade e qualidade dos produtos em conjunto com o sistema de produção e as premissas do mercado (ROSA et al., 2013).

Sabe-se que para ter um rebanho bovino de alta qualidade e produtiva se faz necessário a aquisição de touros reprodutores que apresentam características fenotípicas e genotípicas adequadas, com isso o melhoramento genético foi crescendo cada vez mais no meio de produtores de gado bovino. As primeiras medidas implementadas no melhoramento

genético foram os cruzamentos sistemáticos com o objetivo de aumentar a produção de carne. Em 1934 a 1998 foram realizados vários estudos, nos quais se observou que os animais cruzados, se destacam mais que os puros em características de desempenho nutricional e eficiência reprodutiva das fêmeas (ALENCAR, 2004).

Com o passar dos anos outros meios de melhoramento genético foram sendo descobertas, como por exemplo a seleção animal quanto as características econômicas, onde esses no início avaliavam apenas características de crescimento, já nos dias atuais as características ligadas a eficiência reprodutiva passaram a ser consideradas, e com isso foram criadas programas de avaliação genética, nos quais avaliam não só o crescimento e eficiência reprodutivas, mas também perímetro escrotal, idade ao primeiro parto, intervalos de partos, conformação frigorífica, e entre outras características nas quais são esperadas na progênie (DEPs) (ALENCAR; BARBISA, 2010).

Os programas de seleção no início eram praticados apenas dentro do rebanho, entretanto observou-se por grupos de criados e pesquisadores brasileiros a necessidade de realizarem as avaliações entre rebanhos. Desta forma se criou os programas de melhoramento hoje existentes, que além de fornecerem as DEPs (diferença esperada na progênie) para várias características econômicas, contribuem para o planejamento de acasalamentos, melhorando as gerações futuras (ALENCAR, 2004).

Hoje no Brasil, um dos principais programas de melhoramento genético é Programa Embrapa de Melhoramento de Gado de Corte – Geneplus. A tecnologia Geneplus é reconhecida por seu serviço de atendimento individualizado para cada criador através de recursos genéticos disponíveis em seu rebanho, levando em consideração as particularidades do seu sistema de produção e os objetivos desejados. Para a implantação do Programa Geneplus se faz necessário a definição dos objetivos, os critérios de seleção, e a infraestrutura da propriedade, para que ao final sejam gerados os planos de acasalamentos e critérios de seleção através destas informações (ROSA et al., 2013).

A coleta de dados é o ponto principal para implantação do programa de melhoramento genético, os dados a serem coletados são divididas em cinco fases, sendo eles o acasalamento, nascimento, maternal, desmama e sobreano. Para que os dados sejam coletados de maneira eficiente é necessário que seja estabelecido um plano de trabalho com cronogramas de atividades a serem realizadas, a partir da implantação da estação de monta, facilitando a formação de grupos de manejo. Deste modo os produtos, ou seja, os bezeros

desse grupo de manejo apresentaram os mesmos sexos, mesma idade, mesmo regime alimentar e submetidos a condições idênticas de tratamento, e a partir disto é formado o grupo contemporâneo, que são formados pela sequência de grupos de manejo. A formação dos grupos contemporâneos se faz importante pois a partir de dados coletados deste grupo, se faz possível a estimação de Diferenças Esperadas na Progenie – DEPs (YOKOO et al., 2019).

Os sumários de reprodutores são arquivos que contam algumas informações das avaliações genéticas que são realizadas em animais participantes de programas de melhoramento genético. Os sumários são publicados semestralmente ou anualmente, e são apresentando no sumário apenas animais que se destacam em avaliação genética, para que desta forma possam ser utilizados pelos produtores para aumentar o ganho genéticos de seus rebanhos (GUIDOLIN et al., 2020).

Os animais presentes nos sumários são classificar em DEPs (diferença esperada na progênie), que está associada a acurácia, medida em porcentagem para avaliar o quanto dessas características serão passadas para seus filhos. As DEPs que contam nos sumários são relacionadas ao compilado de características eleitas pelo programa de melhoramento que compõem este rebanho. Além de apresentar as DEPs dos touros, os sumários exibem dados sobre as vacas (matrizes) e seus produtos (ROSA et al., 2013).

A DEP é a metade do valor genético aditivo estimado para uma determinada característica, resultante de uma fórmula matemática. Para determinar o valor da DEP, a formula matemática utilizada é: $P = G + E + GE$, onde, P é o fenótipo do animal, ou seja, o seu desempenho para determinada característica, G é o resultado da junção de todos os genes e combinações genéticas que influenciam a característica, E é os efeitos que o ambiente implica sobre o desempenho do animal e o GE é a interação entre os genes e ambiente (YOKOO et al., 2019).

Como citado, a DEP é uma estimativa, e a confirmação dada à DEP para determinada característica é definido pela acurácia. A acurácia é a correlação entre a estimativa do valor genético e o valor genético verdadeiro, sua mensuração varia de 0 a 1, uma vez que quanto mais próximo de 1 o valor, maior a segurança no valor estimado da DEP, ou seja, melhor a acurácia (ROSA et al., 2013).

As características avaliadas em programas de melhoramento genético em sistemas de produção de gado de corte são aquelas nas quais tem como resultado a venda dos animais,

desmama ou abate. As características analisadas são: reprodutivas, de desenvolvimento ponderal, avaliação de carcaças medidas por ultrassonografia, características de conformação frigorífica e consumo alimentar (GUIDOLIN et al., 2020).

Nas fêmeas as características reprodutivas avaliadas são: idade ao primeiro parto, que corresponde a uma característica de baixa a média herdabilidade, e que se faz muito importante sua avaliação pois marca o início do processo reprodutivo das fêmeas, onde quanto mais cedo se antecipa a idade reprodutiva, aumenta a vida útil da fêmea, maior a intensidade de seleção, reduz o intervalo entre gerações, e possibilita o ganho de investimento mais rápido (MATTOS; ROSA, 1984); o intervalo entre partos é o tempo correspondente entre duas partições sucessivas, determinando a eficiência reprodutiva da vaca e sua produção total de crias em sua vida útil (ROSA et al., 2013);

A herdabilidade de permanência do rebanho ou *stayability*, refere-se a probabilidade das fêmeas se encontrarem ativas para reprodução em uma idade específica e, a probabilidade de prenhez precoce, onde as novilhas com idade de 14 meses são colocadas em reprodução ainda jovens, sendo essas avaliadas quanto seus status de prenha ou vazia. Já nos machos a característica a ser avaliada é o volume testicular ou perímetro escrotal, que além de avaliar a quantidade de sêmen que o touro pode produzir, também selecionam animais sexualmente mais precoces (ROSA et al., 2013).

As características de desenvolvimento ponderal são aquelas que mensuram o desempenho do animal em relação ao ganho de peso (GUIDOLIN et al., 2020). As DEPs são estimadas para as características de peso em diversas idades, onde a primeira pesagem é feita ao nascimento, e tem por finalidade reduzir ou banir os problemas de distocias nos partos, quando o bezerro completa de três aos cinco meses (fase materna) e, dos seis aos nove meses (fase de desmama) é realizada outra pesagem para avaliar o efeito materno, pela produção de leite e cuidados com a cria e, o efeito direto de crescimento da própria cria, a próxima pesagem é feita dos 13 aos 18 meses de idade, que corresponde ao peso ao sobreano, que determina a capacidade do animal em ganhar peso no período pós-desmama, e por último é feita a pesagem dos animais já adultos (ROSA et al., 2013).

A qualidade de carcaça é avaliada pela gordura, que é caracterizada como o componente de maior variação na carne, e é avaliado na carcaça a porcentagem de gordura tanto subcutânea quanto intramuscular. As características que devem ser avaliadas são: área de olho de lombo (AOL), que é medida transversalmente o músculo longissimus dorsi entre

a 12^a e 13^a costelas, indicando a musculosidade; espessura de gordura subcutânea na costela (EG) é medida entre as 12^a e 13^a costelas, em milímetros, e indica o grau de acabamento da carcaça; espessura de gordura subcutânea na garupa (EGS) é a medida em milímetros da espessura de depósito de gordura entre o íleo e o ísquio, seu objetivo também é de avaliar o grau de acabamento de carcaça; e por último a característica avaliada é a porcentagem de gordura intramuscular (MAR), mensurada no músculo longissimus dorsi, entre as 12^a e 13^a costelas, que é indicadora de marmoreio (YOKOO et al., 2019).

A conformação frigorífica é a avaliação visual dos animais da estrutura, musculosidade e precocidade de acabamento. Essas três características são avaliadas em conjunto, e os animais são classificados em: fundo, meio e cabeceira, podendo receber notas de 1 a 6 pontos. As DEPs para conformação frigorífica são: ganho de peso à desmama (GPD); conformação frigorífica à desmama (CFD) e conformação frigorífica ao sobreano (CFS) (ROSA et al., 2013).

O CAR (consumo alimentar residual) é uma das DEPs avaliadas pelos programas de melhoramento, como por exemplo, o da Genplus. O CAR é uma medida de eficiência alimentar que tem como objetivo diminuir os custos com alimentação, o cálculo utilizado para essa característica é entre a diferença do consumo observado e o consumo estimado. Quanto mais negativo o CAR mais eficiente é o animal, pois esse ingere menos alimento para atingir um determinado peso, em relação à um animal positivo (SAINZ et al., 2006).

Outras características que podem ser avaliadas é, resistência a parasitas, sendo eles externos como carrapatos, mosca-dos-chifres, bernes ou internos como os helmintos. Essa resistência é de origem genética, já que visto que em uma população existem animais geneticamente superiores; O temperamento também é uma característica bem avaliada nos dias atuais, visto que raças mais bravias aumentam os custos de produção, e por maiores níveis de estresse produzem produtos de qualidade inferiores; Outra característica que diminui os custos de produção é a eficiência alimentar, pois através do monitoramento do consumo alimentar é possível definir a real quantidade necessária para o crescimento deste animal; A PAC (Produtividade acumulada), é outra característica que está sendo utilizada, esta é avaliada durante toda a permanência da vaca no rebanho e, sua mensuração se faz através de quilogramas de bezerros desmamados por ano (ROSA et al., 2013).

Os critérios de seleção é um conjunto de características que os programas de melhoramento genético utilizam para identificar o que geneticamente deve ser melhorado,

e essas características são avaliadas em DEPs. Existem várias características que são avaliadas no critério de avaliação, sendo elas: características reprodutivas, de crescimento, qualidade de carcaça, resistência a parasitas, temperamento e eficiência alimentar, produtividade. (YOKOO et al., 2019).

Outra forma de ranquear os animais é pelo índice de seleção, onde estes índices atribuem à algumas características avaliadas uma maior importância, dessa forma classificando os reprodutores quanto ao seu mérito genético através destas. O programa Genepplus da Embrapa utiliza o IQG (índice de qualificação genético), que corresponde à um índice de seleção básica, as características utilizadas para determinar o IQG são: (TMM) total maternal do peso à fase materna, (PD) efeito direto do peso à desmama, (TMD) total maternal do peso à desmama, (OS) peso ao sobreano, (GPD) ganho de peso pós desmama, (CFS) conformação frigorífica ao sobreano, (PES) perímetro escrotal ao sobreano, (IPP) idade ao primeiro parto. A fórmula utilizada com suas respectivas ponderações são: $IQGb = 5\% * TMM + 15\% * PD + 15\% * TMD + 15\% * PS + 20\% * GPD + 10\% * CFS + 10\% * PES + 10\% * IPP$ (GUIDOLIN et al., 2020).

4171

1.3 EXAME ANDROLÓGICO

Para avaliar o potencial reprodutivo de um touro, é necessário a realização do exame que avalie sua função reprodutiva, não só a qualidade espermática e órgão genitais, como também avaliação física e clínica deste indivíduo. Dessa forma, o exame andrológico se faz importante para a reprodução animal, pois através da completa avaliação sexual é possível determinar se o touro está apto, ou não para a reprodução (MARIANO et al., 2015).

Segundo a Barbosa, Machado e Bargamaschi (2005) o exame andrológico é indicado em várias situações, como para avaliação do reprodutor antes da estação de monta, para comercialização de reprodutores, caso haja ocorrência de falhas reprodutivas no rebanho, determinar a puberdade no macho, diagnóstico de infertilidade em touros que serão ingressos em centrais de congelamento de sêmen.

Os órgão responsáveis pelo desenvolvimento, amadurecimento, transporte e armazenamento dos gametas masculinos, compreende em um par de testículos, responsáveis pela produção de espermatozoides e de hormônios, o epidídimo que armazena os espermatozoides para o amadurecimento, ducto deferente que compreende pela continuação direta do epidídimo, a uretra é o canal de passagem de espermatozoides, urina e secreções

liberadas pelas glândulas genitais acessórias, que dão volume ao sêmen, e o pênis que compreende o órgão que copula o sêmen no trato reprodutor feminino (KONIG et al., 2011).

Os espermatozoides são divididos em duas estruturas anatômicas básicas, que se dividem em cabeça, cauda e peça principal da cauda. A cabeça é formada pelo acrossoma, que corresponde a uma dupla camada de membranas que envolvem o núcleo, nela contem enzimas hidrolíticas que fazem parte do processo de fecundação, o acrossoma é responsável pela proteção anterior do núcleo que contem a cromatina condensada, que compreende um complexo de DNA com uma classe especial de proteínas chamadas de protaminas. A cabeça do espermatozoide apresenta um formato oval e achatada devido ao núcleo de DNA ser extremamente compactada (HAFEZ, 2004).

A cauda do espermatozoide é formada pelo colo, peça intermediária, peça principal e peça terminal. A peça intermediária é responsável pela produção energética do espermatozoide, sua estrutura é constituída pelo axonema, que tem como função a transformação da energia química em mecânica pela proteína dineína, essa estrutura é recoberta externamente por várias mitocôndrias de formato helicoidal que produz a energia necessária para a motilidade espermática. A peça principal é composta pelo axonema e sua associação de fibras e a peça terminal contém apenas o axonema e membrana plasmática (MARTINS; DODE; SILVA, 2016).

A primeira etapa realizada no exame andrológico é a identificação, contendo todos os dados do proprietário e do animal, o próximo passo é a realização da anamnese e histórico reprodutivo do indivíduo. Após a coleta de todos dados necessários, é realizado o exame clínico geral do touro, onde através desde é possível detectar possíveis anormalidade nos sistemas respiratório, circulatório, nervoso, digestivo e principalmente o sistema locomotor. O exame clínico geral é efetuado tanto com o animal em repouso, quando em movimento (Barbosa; Machado; Bargamaschi, 2005).

O exame clínico específico é realizado pela palpação dos órgãos do sistema genital. O escroto é examinado quanto à mobilidade, sensibilidade, mobilidade, temperatura, espessura da pele, presença de ectoparasitas, aderências e lesões, para examinar os testículos é preciso o tracionamento deles para dentro da bolsa escrotal, verificando sua simetria, consistência, posição, temperatura, sensibilidade, tamanho e biometria. A biometria testicular é estimada através da circunferência escrotal utilizando fitas específicas (Barbosa; Machado; Bargamaschi, 2005). O epidídimo deve apresentar consistência levemente elástica,

e devem estar diretamente aderidos aos testículos (GROVE, 1975). O pênis deve ser examinado quanto a presença de lesões, tamanho, mobilidade, mucosas anormais e secreções (HAFEZ, 2004). O prepúcio deve permitir a passagem do pênis livremente, sem a exposição da mucosa, observar também a temperatura, se há prolapsos, abscessos, hematomas ou cicatrizes. Além do exame específico dos órgãos genitais externos também é preciso examinar os internos, tais como as ampolas dos canais deferentes e as glândulas vesiculares, sua avaliação pode ser feita por palpação retal ou por ultrassonografia transretal, deve-se observar o tamanho, forma, sensibilidade e lobulação (Barbosa; Machado; Bargamaschi, 2005).

Para realização do espermograma é preciso efetuar a coleta do sêmen, sendo os métodos mais utilizados para estimular a ejaculação são, o eletroejaculador e a vagina artificial. Após coleta da amostra de sêmen, é feita imediatamente a avaliação física, e posteriormente retirado a amostra para avaliações futuras de concentração e morfologia espermática. As primeiras características físicas avaliadas são: volume que é expresso em mililitros no tubo de colheita; o aspecto, coloração e densidade, sendo classificado em sêmen cremoso, leitoso, ralo e aquoso; O turbilhonamento ou motilidade em massa, mede a intensidade da onda de movimentação, sua escala varia de zero (ausência de movimento) a cinco (acentuada movimentação); A motilidade verifica o percentual de espermatozoides em movimento retilíneo e progressivo, ele é classificado de zero a cem; a forma e velocidade de movimentação do espermatozoides é definido em vigor, é categorizado de zero a cinco, de acordo com o nível de força de movimentação. O turbilhonamento, motilidade e vigor são analisados em microscopia óptica, com objetiva de 10 e 40 de aumento respectivamente, em lâminas e lamínulas previamente aquecidas a 37°C (RIBEIRO,2019).

As características de concentração e morfologia espermática são análises feitas posteriormente em laboratórios especializados. A concentração é a contagem de espermatozoides por unidade de volume ejaculado, a forma mais utilizada de contagem e pela câmera de Neubauner em microscopia óptica. Para o exame de patologia espermática ou de morfologia é necessário um microscópio com contraste de fase, ou microscopia óptica utilizando esfregaços em lâminas coradas. As patologias espermáticas são divididas em defeitos maiores, como no acrossoma, presença de gota citoplasmática proximal, cabeça subdesenvolvida, estreita e, entre outras características, e defeitos menores como: cabeça delgada, gigante, curta, calda dobrada, entre outros (Barbosa; Machado; Bargamaschi, 2005).

Realizado todo o exame andrológico, o médico veterinário responsável irá predizer se o touro está apto ou inapto para reprodução, contudo é possível que alguns animais necessitem de novas avaliações para um resultado verídico.

1.4 TTR (TESTE DE TERMORRESISTÊNCIA)

Os testes de termorresistência (TTR) tiveram início devido sua similaridade com efeitos fisiológicos ocorridos na fêmea, pois a permanência do sêmen por um determinado tempo em banho maria simula em parte as condições do ambiente em que o sêmen fica exposto na região genital das fêmeas em cio (ARRUDA et al.,1992). Entretanto com o passar dos anos estudos afirmam que o teste de termorresistência não retrata as verdadeiras condições uterinas, pois neste ambiente são encontradas várias substâncias responsáveis pela manutenção dos espermatozoides até o momento de fecundação do óvulo (VIANNA, 2005).

O TTR é um teste que avalia percentuais de motilidade e vigor assim que o sêmen é descongelado e após um período em banho-maria. Em 1967 Dimitropoulos elaborou duas formas de realizar o teste de termoresistência: o Teste de Termoresistência Lento (TTR/L) e o teste de Termoresistência Rápido (TTR/R) (SIQUEIRA et al., 2007). No TTR/L a amostra sêmen permanece em banho maria à 37°C por 5 horas seguidas (SEVERO,2009). Já no TTR/R a amostra de sêmen é incubada por 30 minutos à 45°C (DIAS,2016).

4174

Esse teste vem sendo realizado a vários anos com o intuito de eliminar sistematicamente todo sêmen descongelado que apresentarem número de espermatozoides ativos menor que 20%. As amostras de sêmen que após o descongelamento obtiverem classificações altas, dificilmente após o TTR terão resultados abaixo de 20%, pois quanto maior a classificação inicial, menor é a diferença na queda de espermatozoides em movimento (JONDET; RABADEUX, 1974).

2. METODOLOGIA DA PESQUISA

O experimento foi realizado no laboratório de reprodução animal, na Embrapa Gado de Corte, localizada na cidade de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

Foram avaliadas amostras seminais descongeladas de 30 touros da raça nelore avaliados pelo programa Genepus-Embrapa, que foram utilizados na Inseminação Artificial em Tempo Fixo nos rebanhos núcleo e multiplicador da Embrapa CNPGC e Pantanal.

A primeira avaliação realizada foi a de motilidade e vigor em microscopia ótica pós descongelamento das palhetas de sêmen, que é efetuado em banho-maria a 36°C. Para análise simples de motilidade e vigor, são requisitados alguns materiais específicos, como: pinça anatômica e tesoura, para pegar e cortar a palheta de sêmen; eppendorf aquecidos a 36°C para condicionar a amostra seminal; pipeta e ponteiras para captar a gota de sêmen que será avaliada; lâmina e lamínula aquecidas à 36°C para visualização no microscópio; e microscópio óptico ajustados na lente objetiva de 40x.

Figura 1: Materiais utilizados a avaliação de motilidade, vigor e teste de TTR/L



Fonte: Gomes (2022)

Para o teste de termoresistência lento (TTR/L), são necessários os mesmos materiais citados acima. Contudo, além da avaliação inicial de motilidade e vigor, é preciso que a amostra seminal permaneça em banho-maria à 36°C por 3 horas, é após o passar do tempo requerido avaliar novamente a motilidade e o vigor da amostra.

Para avaliação da PI dos espermatozoides, foi efetuado o protocolo de fixação (Peter Sutovsky- comunicação pessoal), que consiste em adicionar 250µL de sêmen em um tubo de ensaio contendo 10ml de TALP e centrifugar a 1500rpm por 5 minutos; após centrifugado,

remova o sobrenadante com o auxílio da pipeta de Pasteur, deixando apenas o pellet formado, adicione ao tubo 5ml de formaldeído a 2% e, em temperatura ambiente deixe incubar por 40 minutos e depois centrifugar a 1500rpm por 5 minutos; após centrifugado remova o sobrenadante e adicione 10ml de PBS ao tubo, vortexar a amostra e centrifugue a 1500rpm por mais 5 minutos; remova o sobrenadante e adicione 250 μ L de PBS ao pellet formado e transfira a amostra para um eppendorf de 1,5 ml e mantenha as amostras armazenadas à uma temperatura de 4°C.

Com as amostras já fixadas foram realizadas as mensurações da bainha mitocondrial em Microscopia Digital Software – *Motic Imagens Plus 3.0*® acoplada ao microscópio com contraste de fase (1000 X). Para essas medições é preciso de materiais como, pipeta, ponteiras, lâminas, lamínulas e óleo de imersão para visualizar uma gota da amostra seminal previamente fixada e armazenada. Foram medidas as peças intermediárias de 100 espermatozoides por cada touro avaliado.

Figura 2: Microscopia Digital Software



4176

Fonte: GOMES (2022)

Os dados estatísticos foram analisados pelo programa estatístico SAS, através de análises de correlação (PROC CORR) entre as variáveis (comprimento de PI, parâmetros seminais e DEPS fornecidas pelo programa Genepus Embrapa, $P < 0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com relação ao tamanho da peça intermediária, a média obtida dos 30 touros avaliados foram de $6,6541 \mu\text{m}$, sendo $7,32$ o tamanho máximo da peça, e $6,05$ o tamanho mínimo.

Figura 3 e 4: Espermatozoides fixados em protocolo de Peter Sutovsky e, visualizados em Microscopia Digital Software – *Motic Images Plus 3.0*® acoplada ao microscópio com contraste de fase



Fonte: GOMES (2022)

Na tabela 1 é possível observar os coeficientes de correlação dos parâmetros seminais e tamanho da PI. Os parâmetros que apresentaram significância ($P < 0,05$) foram: Vigor do TTR/L com a motilidade de TTR/L, apresentando o valor de correlação de $0,75697$ e $P < 0,0001$, ou seja, quanto maior a motilidade do teste de termorresistência lento, maior será o vigor do TTR/L. Outro parâmetro importante de ser mencionado é a correlação peça intermediária com a motilidade seminal, que neste estudo se apresentou negativo, contudo, sem significância ($P = 0,1929$).

Tabela 1- Coeficiente de Correlação de Pearson entre Parâmetros seminais

Parâmetros	PI (μm)	Motilidade (%)	Vigor (1-5)	TTR/L Motilidade	TTR/L Vigor	Máximo
Motilidade (%)	-0,29584 0,1929	-	-	-	-	-
Vigor (1-5)	-0,0956 0,6802	0,48649 0,0253	-	-	-	-
TTR/L Motilidade	0,48977 0,0207	0,5019 0,0204	0,30414 0,1801	-	-	-
TTR/L Vigor	0,21273 0,3419	0,40646 0,0675	0,5088 0,0185	0,75697 <.0001 *	-	-
Máximo	-0,57642 0,0009	0,11985 0,6048	0,21518 0,3489	-0,59608 0,0034	-0,22795 0,3076	-
Mínimo	0,38415 0,0361	0,31104 0,1699	0,00221 0,9924	0,48898 0,0209	0,29965 0,1755	0,53872 0,0021

*: P <0,05; PI: peça intermediária; TTR/L: teste de termorresistência lento.

A tabela 2 demonstra as correlações da peça intermediária com as DEPs de características reprodutivas. Os resultados mostram que quanto maior a peça intermediária do espermatozoide, mais cedo se inicia a vida reprodutivas nas fêmeas (Dep IPP), e maior será o perímetro escrotal nos machos (Dep PES).

Tabela 2 - Coeficiente de Correlação de Pearson entre DEPs (Diferenças esperadas na progênie) de Características Reprodutivas

Parâmetro	Dep IPP (dias)	Dep HP/STAY (%)	Dep RD (dias)	Dep PES (cm)
Peça Intermediária (μm)	0,60216 *	0,0004	-0,77018 * <.0001	0,02693 0,8876 0,72489 *

*: P <0,05; Dep: diferença esperada na progênie; IPP: idade ao primeiro parto; HP/STAY: herdabilidade de permanência no rebanho; RD: relação de desmama; PES: perímetro escrotal.

A correlação da peça intermediária com as DEPs de desenvolvimento ponderal, estão especificadas na Tabela 3. A Dep que apresentou significância P (<.0001) com o parâmetro da PI, foi para peso ao nascer (PI), com correlação de 0,924223 negativos. Esse valor afirma que quanto maior o tamanho da peça intermediária, maior será o peso no bezerro ao nascimento.

Tabela 3 - Coeficiente de Correlação de Pearson entre DEPs (Diferenças Esperadas na Progênie) de Características de Desenvolvimento Ponderal

Parâmetro	Dep PN (kg)	Dep PMm (kg)	Dep PD (kg)	Dep PS (kg)	TMm (kg)	TMD (kg)	GPD (g/dias)
Peça	0,92422	0,28056	-0,2736	-0,33645	-0,28441	-0,25129	-0,24906
Intermediária	<.0001 *	0,1332	0,1435	0,0691	0,1277	0,1804	0,1844

*: $P < 0,05$; Dep: diferença esperada na progênie; PN: peso ao nascer; PMm: peso maternal; PD: peso a desmama; PS: peso ao sobreano; TM: total maternal; TMD: total maternal a desmama; GPD: ganho de peso a desmama.

Os resultados apresentados na tabela 4 determinam que quanto maior a PI, menor será o consumo alimentar residual do animal. A correlação apresentada foi de $-0,43005$ e $P(0,0177)$.

Tabela 4 – Coeficiente de Correlação de Pearson entre DEPs (Diferenças Esperadas na Progênie) de Características de conformação frigorífica, de carcaça e eficiência alimentar

Parâmetro	Dep CFD	Dep CFS	Dep AOL (%)	Dep EGS (%)	Dep MAR (%)	Dep CAR
Peça	0,15725	-0,03407	0,04479	-0,07382	-0,03263	-0,43005
Intermediária	0,4066	0,8581	0,04479	0,6983	0,8641	0,0177 *

*: $P < 0,05$; Dep: diferença esperada na progênie; CFD: conformação frigorífica ao desmame; CFS: conformação frigorífica ao sobreano; AOL: área de olho de lombo; EGS: espessura de gordura subcutânea; MAR: percentagem de gordura intramuscular ou marmoreio; CAR: consumo alimentar residual.

Na pesquisa realizada por Wiley (2019), o tamanho da peça intermediária da raça Nelore correspondeu á $9,74 \mu\text{m}$, se diferindo dos resultados obtidos no presente trabalho, que teve como média a PI de $6,65 \mu\text{m}$.

Os dados de motilidade e vigor ao descongelamento apresentaram correlações positivas com a avaliação pós TTR, o que demonstra que amostras seminais de boa motilidade e vigor tendem a apresentar bons resultados também após a avaliação de TTRL. Os dados concordam com Jondet & Rabadeux (1974) que verificaram em seus estudos, que logo após o descongelamento quanto maior a classificação inicial da amostra seminal, menor será o percentual de queda dos espermatozoides que apresentam movimentos progressivos após o teste de TTRL.

O presente estudo relata correlações entre a peça intermediária (PI), e algumas características dada em DEPs (diferenças esperadas na progênie). Como vistos nas tabelas acima, a peça intermediária apresentou correção e significância ($P < 0,05$) com as DEPs de: idade ao primeiro parto (IPP); perímetro escrotal (PES); herdabilidade de permanência (HP/stay%); peso ao nascer (PN) e consumo alimentar residual (CAR). Acredita-se que essas características são transmitidas as progênies, através do DNA mitocondrial paterno pois, literaturas recentes mostram que não só o núcleo do espermatozoide penetra o oócito,

mas também todas as estruturas espermáticas, incluído a peça intermediária, que contém a bainha mitocondrial (NEILL, 2006; ALBERTS ET AL., 2008; GILBERT, 2010). Além disso Woolley & Beatty (1967) citam que o comprimento da peça intermediária, e a quantidade de giros da bainha mitocôndria são características hereditárias, ou seja, que podem ser passadas aos seus produtos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através dos resultados obtidos no presente trabalho, é possível concluir que a avaliação de peça intermediária (PI), mostrou correlações positivas com a qualidade espermática, e com os dados de DEPs (diferenças esperadas na progênie) relacionadas as características produtivas de touros da raça nelore.

REFERÊNCIAS

ABIEC - Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne. Beef REPORT Perfil da Pecuária no Brasil 2020. Disponível em: <http://abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2020/>. Acesso em: 07 de outubro de 2022.

ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. Molecular Biology of the Cell, 5th edn. London: Garland Publishing Inc., 2008.

ALENCAR, M. M.; BARBOSA, P. F. Melhoramento genético de gado de corte no Brasil. IMPÓSIO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO ANIMAL, p. 1-9, Maringá: SBMA, 2010.

ALENCAR, M. M. Perspectivas para o melhoramento genético de bovinos de corte no Brasil. REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, p. 358-367, Campo Grande: CBZ, 2004.

ARRUDA, R.P.; BARNABE, V.H.; ALENCAR, M.M.; BARNABE, R.C. Avaliação de sêmen congelado de bovinos. Provas lenta e rápida de termoresistência: efeitos sobre a fertilidade. Braz. J. Res. Anim. Sci., v.1, p.131-137, 1992.

ASBIA. Mercado de genética bovina cresceu mais de 21% em 2021, informa Index ASBIA. Uberaba, 2021. Disponível em :< <https://asbia.org.br/newsite/?p=4795>>. Acesso em: 09 de outubro de 2022.

BARBOSA, R. T.; MACHADO, R.; BERGAMASHI, M. A. C. M. A importância do exame andrológico em bovinos. Comunicado Técnico, 41, p. 1-13, São Carlos, 2005.

DIAS, E.A.R. Avaliação de sistemas de refrigeração e congelamento na cinética e função espermática do sêmen bovino. 2016. 69f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal Sustentável). Instituto de Zootecnia, Nova Odessa, 2016.

FIRMAN, R. C.; SIMMONS, L. W. Sperm midpiece length predicts sperm swimming velocity in house mice. *Biology letters*. Australia, v. 6, p. 513-516, February, 2010.

FISHER, H. S.; PALMER, E. J.; LASSANCE, J. M.; HOEKSTRA, H. E. The genetic basis and fitness consequences of sperm midpiece size in deer mice. *Nature Communications*. Maryland, v. 7, p. 1-9, December, 2016.

GUIDOLIN, D. G. F. et al. Interpretação de sumários de touros. 1 ed. Londrina: Editora Científica, 2020.

GU, N. H.; ZHAO, W. L.; HANG, G. S.; SUN, F. Comparative analysis of mammalian sperm ultrastructure reveals relationships between sperm morphology, mitochondrial functions and motility. *Reproductive Biology and Endocrinology*. Xangai, p. 1-12, 2019.

GROVE, D. Ambulante andrologische Diagnostik beim Rind in Warmeren Landern. *Ambth Esxborn: Deutschen Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit*, 1975. 288p

HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. Reprodução Animal. 7. ed. Barueri: Manole, 2004.

4181

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção da pecuária municipal, 2016. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/home/pms/brasil>. Acesso: 07 de outubro de 2022.

JONDET, R., RABADEUX, Y. Utilisation du test de thermoresistance dans l'appréciation de la valeur du sperme congelé de taureau. In: 9th INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF ZOOTECHNY, 1974, Milano, 1974, p.15-7.

KÖNIG, H.E.; LIEBICH, H.G. Órgãos genitais masculinos. In: Anatomia dos animais domésticos: texto e atlas colorido. Porto Alegre: Artmed Editora S.A, 2011. v. 2, cap. 10, p. 119-134.

LUPOLD, S.; CALHIM, S.; IMMLER, S.; BIRKHEAD, T. R. Sperm morphology and sperm velocity in passerine Birds. *Proceedings The Royal Society*. Sheffield, 23 December 2008, 276, p. 1175-1181.

MALAFAIA, G.; CONTINI, E.; DIAS, F. R. T.; GOMES, R. C.; MORAES, A. E. L. Cadeia produtiva da carne bovina: contexto e desafios futuros. Campo Grande: Embrapa, 2021.

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Indicadores gerais Agrostat, 2021. Disponível em: <http://indicadores.agricultura.gov.br/agrostat/index.htm>. Acesso em: 07 de outubro de 2022.

MARIANO, R. S. G.; TONETTO, H. C.; FRARI, M. G.; SAES, L. M.; TOZZETTI, D. S.; TEIXEIRA, P. P. M.; VICENTE, W. R. R. Exame andrológico em bovinos – revisão de literatura. *Nucleus Animalium*, v. 7, n. 1, p. 131-135, 2015.

MATTOS, S.; ROSA, A.N. Desempenho reprodutivo de fêmeas de raças zebuínas. *Informe Agropecuário* v.10, n. 112, p. 29-33, 1984.

MOJICA, C. A. P. Análise ultraestrutural e avaliação do sêmen de peixes neotropicais, *Brycon orbignyanus*, *Rhamdia quelen* e *Brycon hilarii* (Pisces, Teleostei). 2004. 82f. Dissertação de Mestrado – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2004.

RIBEIRO, M. J. EXAME ANDROLÓGICO EM BOVINOS. 2019. 34 f. Trabalho de conclusão de curso. Universidade de Rio Verde, Rio Verde, 2019.

ROSA, A. N. et al. Melhoramento genético aplicado em gado de corte: programa geneplus. 1. ed. Brasília: Embrapa, 2013.

SAINZ, R. D.; GUEDES, C. F.; GOMES, R. C. Consumo Alimentar, Eficiência Alimentar e Impactos na Qualidade da Carne. In: V SIMCORTE - V Simpósio de Produção de Gado de Corte e I Simpósio Internacional de Produção de Gado de Corte. Viçosa: V SIMCORTE, 2006. p.345-360.

SEVERO, N.C. Influência da qualidade do sêmen bovino congelado sobre a fertilidade. *A Hora Veterinária*, v.28, p.36-39, 2009.

SIQUEIRA, J.B.; GUIMARÃES, J.D.; COSTA, E.P. et al. Relação da taxa de gestação com sêmen bovino congelado e testes de avaliação espermática in vitro. *Rev. Bras. Zootec.*, v.36, p.387-395, 2007.

VIANNA, F. P. Eficiência dos testes de termoresistência (lento e rápido) em relação a fertilidade de sêmen congelado na espécie bovina. 2005. 90f. Dissertação de Mestrado – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2005.

VLADIC, T. V.; AFZELIUS, B. A.; BRONNIKOV, G. E. Sperm Quality as Reflected Through Morphology in Salmon Alternative Life Histories, v. 66, p. 98-105, August, 2002.

WILEY, G.; NOGUEIRA, E.; SANCHES, C.; KERNS, K.; SUTOVSKY, P. Sperm Tail Mitochondrial Sheath Length Correlates with Bull Fertility Outcomes. 52^o annual conference Beyond Possible: Remarkable Transformation of Reproductive Biology. LOCAL: Society for the Study of Reproduction, 2019. P 250-251.

YOKOO, M. J. et al. Boas práticas em melhoramento genético de gado de corte. 2 ed. Bagé: Embrapa, 2019.