

EXAME ANDROLÓGICO COMPUTADORIZADO A CAMPO BOVINOS DA RAÇA ABERDEEN ANGUS E NELLORE

COMPUTERIZED ANDROLOGICAL EXAMINATION IN THE FIELD ABERDEEN ANGUS AND NELLORE CATTLE

Caio Silva Pelin¹
Jair Sábio de Oliveira Júnior²

RESUMO: A cadeia produtiva da pecuária de corte representa uma grande parte do cenário econômico do país, movimentando mais de R\$ 483,5 bilhões de reais em 2015, o que representa 30% do PIB do agronegócio brasileiro. Com elevada demanda de exportação de carne bovina aumenta necessidade em tornar sistema de produção cada vez mais eficiente, aumentando a produtividade do rebanho. A avaliação da motilidade e morfologia espermática são essenciais na análise da qualidade do sêmen, na avaliação subjetiva as variações chegam até 60%, com intuito de reduzir a subjetividade, sistemas automáticos vêm sendo desenvolvidos como o (CASA), que realiza a análise seminal, fornecendo maior confiabilidade e velocidade na obtenção dos dados. A uniformização desse instrumento fornecerá melhores resultados na biotecnologia da reprodução animal. O objetivo deste estudo foi demonstrar os resultados obtidos no exame andrológico computadorizado (Sperm Class Analyzer[®]), de bovinos da raça nelore e Aberdeen angus criados extensivamente. Sendo esses animais submetidos a exame clínico geral e exame interno e externo do sistema genital. Neste trabalho a coleta de sêmen foi realizada por meio de eletroejaculação. As características física e morfológica do sêmen foram avaliadas por meio convencional e pelo programa Sperm Class Analyzer[®], sendo possível obter melhores resultados através do programa com a visualização de patologias não observadas no meio convencional, obtendo assim melhores resultados na reprodução.

961

Palavras Chaves: Análise computadorizada. Exame andrológico. Sêmen. Reprodução.

ABSTRACT: The productive chain of beef cattle represents a large part of the country's economic scenario, moving more than R\$ 483.5 billion reais in 2015, which represents 30% of the Brazilian agribusiness GDP. With high demand for beef exports, there is an increasing need to make the production system more and more efficient, increasing the productivity of the herd. The evaluation of sperm motility and morphology are essential in the analysis of semen quality, in the subjective evaluation variations reach up to 60%, in order to reduce subjectivity, automatic systems have been developed such as (CASA), which performs the seminal analysis, providing greater reliability and speed in obtaining data. The standardization of this instrument will provide better results in animal reproduction biotechnology. The objective of this study was to demonstrate the results obtained in the computerized andrological examination (Sperm Class Analyzer[®]) of Nelore and Aberdeen Angus cattle raised extensively. These animals were submitted to general clinical examination and internal and external examination of the genital system. In this work, semen collection was performed by means of electroejaculation. The physical and morphological characteristics of the semen were evaluated by conventional means and by the Sperm Class Analyzer[®] program, being possible to obtain better results through the program with the visualization of pathologies not observed in the conventional means, thus obtaining better results in reproduction.

Keywords: Computerized analysis. Andrological examination. Semen. Reproduction.

¹Cursando 10 período de medicina veterinária, Centro Universitário Maurício de Nassau (UNINASSAU).

²Orientador. Universidade Estadual de Londrina (UEL). Médico Veterinário.

INTRODUÇÃO

A cadeia produtiva da pecuária de corte representa uma grande economia no cenário econômico do país, movimentando mais de R\$ 483,5 bilhões de reais em 2015, o que representa 30% do PIB do agronegócio brasileiro. Conforme dados do (IBGE, 2015), o rebanho nacional ultrapassou 224 milhões de cabeça de gado, e em 2021 as exportações de carne bovina chegaram a 2,4 milhões de toneladas, gerando uma receita maior de US\$ 3,1 bilhões de dólares (ABIEC, 2022). Com elevada demanda de exportação de carne bovina, aumenta necessidade em tornar o sistema de produção cada vez mais eficiente, aumentando a produtividade do rebanho, pois uma baixa eficiência reprodutiva irá resultar em menor número de bezerros nascidos, levando a grandes perdas econômica.

De acordo com a Associação Brasileira de Aberdeen Angus, a raça Aberdeen Angus (*Bos taurus*), é originária do nordeste da Escócia, mais precisamente do condado de Aberdeen, reconhecida oficialmente em 1835. Introduzida na cidade de Bagé na região sul do Brasil no ano de 1906, com touro Menelik importado por Leonardo Collares Sobrinho em seguida Visconde Ribeiro Magalhães. A raça Angus possui características desejáveis quando se trata de produção como carne nobre, precocidade sexual, facilidade de parto, habilidade materna.

A raça Ongole, ou Nelore, como é conhecida no Brasil, surgiu mil anos antes da era cristã. Nelore nome de um distrito da antiga Província de Madras, Estado de Andra na Índia, de onde foram embarcados os primeiros animais com destino ao Brasil na primeira metade do século XIX. Entre os anos de 1960 a 1962 foram desembarcados reprodutores nelore no país grandes genarcas como Golias, Kavardi, Rastã, Checurupadu, Godhavari, Padu e Akasamu, que são as bases das principais linhagens de Nelore no Brasil. Os nelores são reconhecidos por sua adaptação a condições tropicais brasileiras, apresentando excelentes rendimentos de carcaça, sendo responsáveis por 80% da força produtiva da indústria da carne no país, conforme o relatório de comercialização de sêmen (ASBIA, 2011).

A monta natural é considerada o método mais seguro para mensurar a fertilidade do sêmen, por meio da taxa de prenhez ou taxa do retorno do estro, porém esse processo demanda um alto custo por ser um processo demorado. Sabendo-se disso desde o início do século os cientistas procuram desenvolver ensaios laboratoriais para que predigam acuradamente a fertilidade do sêmen. Nenhum teste isolado é capaz de prever a fertilidade de uma amostra de sêmen, mas o exame de várias características pode determinar uma maior

fertilidade potencial (LARSSON E RODRIGUEZ-MARTINEZ, 2010; ARRUDA et. al., 2010).

As características espermáticas como motilidade, concentração e morfologia são avaliadas nas amostras de sêmen, sendo a motilidade espermática avaliada entre a lâmina e lamínula, enquanto as anormalidades são avaliadas em esfregaços corados, ambas as técnicas realizadas com uso de microscópio óptico. Contudo estudos reportam que essa análise pode ser imprecisa, mesmo quando executada por investigadores experientes, sendo essas análises influenciadas por diversos fatores (Celeghini et al., 2010). Com o intuito de obter técnicas que demonstre maior eficiência, sistemas que utilizam análise computadorizada de imagens têm sido desenvolvidos e empregadas nos últimos anos (MATOS et al., 2018).

De acordo com Giaretta et al.,2017, o uso dos sistemas computadorizados (CASA) como o CellSoft[®], HTM 2000[®] Hamilton-Thorn Research, HTM-IVOS Sperm Analyzer[®], HTMCEROS 12.1[®], SCA-Sperm Class Analyzer[®] são capazes de determinar e identificar uma serie de variáveis dos movimentos espermáticos, como a motilidade total e progressiva, retilinearidade, velocidade curvilinear, velocidade linear progressiva, velocidade média da trajetória, frequência do batimento flagelar, linearidade, e amplitude do deslocamento lateral da cabeça de muitas células, ocorrendo de forma simultânea e individual, movimentos esses que não são possíveis de determinar pelo olho humano (QUINTERO- MORENO et al., 2013).

Sendo assim, para realização desse trabalho padronizou a utilização do Sperm Class Analyser[®] (SCA), para realização da avaliação dos parâmetros de movimento espermático que são importantes na fertilidade, além de identificar anomalias e patologias espermáticas em amostras de sêmen de bovinos da raça Aberdeen Angus e nelore, com intuito de garantir a precisão e resultados mais fidedignos na hora da inseminação.

MATERIAL E MÉTODOS

Neste estudo foram utilizadas amostras de sêmen de touros da raça Aberdeen Angus e nelore. A coleta do sêmen foi realizada no mês de março de 2023, em uma propriedade destinada à pecuária de corte, situada no município de Pimenta Bueno no Estado de Rondônia, clima tropical. Dezesesseis touros da raça Nelore (*Bos taurus indicus*), puros de origem (PO), hígdidos, com idade variando entre 36 a 60 meses, criados extensivamente, foram submetidos ao exame andrológico, completo. Foram utilizados dois touros da raça Aberdeen Angus, criados extensivamente, com idade variando entre 36 meses a 60 meses,

sendo submetidos ao exame andrológico, foi utilizado para avaliação do movimento espermático a análise computadorizada de sêmen pelo SCA (Sperm Class Analyzer®).

Primeiramente, os touros foram contidos individualmente, em tronco apropriado. Os animais foram identificados através de números marcados em cada um de forma individual e única, ao exame dos órgãos genitais externos e internos sem alteração, ao exame clínico geral, apresentaram-se clinicamente saudáveis, score corporal 3. O sêmen foi obtido através do método da eletroejaculação, de modo que os ejaculados foram coletados em tubos coletores graduados, acoplados a funil plástico. Após a coleta foi realizado avaliações quanto ao volume (ml), aspecto, mediante a visualização direta no recipiente. Avaliações do turbilhonamento, motilidade espermática progressiva, vigor, concentração e morfologia foram realizadas com auxílio de um microscópio binocular convencional (aumento de 100 x), colocando uma gota de sêmen sobre uma lâmina.

Macroscopicamente foi avaliado o volume, coloração, consistência, pH, na concentração espermática foi feita uma estimativa, com base no aspecto do sêmen coletado. Para realização da avaliação do turbilhonamento foi colocada uma gota de sêmen sobre a lâmina em seguida visualizada em microscopia de luz com aumento de 100 vezes. Logo após foi posto uma lamínula sobre a gota do sêmen com aumento de 400 vezes foi avaliado o vigor e a motilidade espermática progressiva.

Os padrões utilizados para ajuste do equipamento tiveram como base nas recomendações do programa Sperm Class Analyzer®, para análise de sêmen da espécie bovina. Após o setup ser ajustado previamente para análises de espermatozoides bovinos, iniciou-se a avaliação da amostra espermática, sendo essa diluída ($12,5 \times 10^6$ espermatozoides bovinos) em meio TALP *sperm*. As variáveis consideradas foram a: motilidade total (MT%), motilidade progressiva (MPROG, %), velocidade do trajeto (VAP, $\mu\text{m/s}$), velocidade curvilínea (VCL, $\mu\text{m/s}$), deslocamento lateral da cabeça (ALH, $\mu\text{m/s}$), frequência de batimento (BCF, Hz), retilinearidade (STR, %) e linearidade (LIN, %).

Após a realização do exame convencional, foi realizado o primeiro experimento, sendo avaliadas 36 lâminas, duas lâminas de cada touro, essas amostras foram diluídas em diluidor comercial, obtendo a concentração $12,5 \times 10^6$ espermatozoides/mL, sendo retirada uma alíquota de $5\mu\text{L}$ e depositada em lâmina sob lamínula.

No segundo experimento foi reavaliado 12 lâminas, duas lâminas de cada touro, que não obteve resultado satisfatório no primeiro experimento, essas amostras foram diluídas em diluidor comercial, obtendo a concentração $12,5 \times 10^6$ espermatozoides/mL, sendo

retirada uma alíquota de $5\mu\text{L}$ e depositada em lâmina sob lamínula, para avaliação da motilidade e morfologia espermática.

O delineamento experimental foi realizado em blocos ao acaso, considerando que o bovino como o bloco. Todos os dados de movimento e morfologia espermática gerada pelo sistema de análise computadorizada de sêmen nos experimentos foram salvos na base de dados do sistema e registrados em arquivos Excel e tabela Word.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo, foram submetidos ao exame andrológico 18 touros, com idade variando entre 36 e 60 meses, pesando cerca entre 25 e 30 arrobas. Após minuciosa avaliação geral e avaliação andrológica computadorizada (SPA), 10 touros foram classificados como aptos, 03 touros classificados como questionáveis, 05 touros classificados como inaptos a estação de monta, dentre eles um da raça Aberdeen Angus e quatro da raça nelore.

Os testes convencionais utilizados neste estudo foram: volume (mL), aspecto (aquoso, seroso, leitoso e cremoso), turbilhonamento (0-5), motilidade espermática, motilidade progressiva (0-100%), morfologia e vigor (0-5), realizados a campo, imediatamente após a coleta. A leitura do volume do ejaculado foi realizada em tubos plásticos graduados de 15 ml.

Para as análises do turbilhonamento, vigor e motilidade foi utilizado um microscópio óptico comum, na objetiva de 10X para o turbilhonamento e de 40X para o vigor e motilidade. Para a determinação da concentração realizou-se diluição em solução de formol-salino, imediatamente após cada coleta a campo, sendo avaliada na objetiva 40X. Para avaliação da morfologia espermática foi analisada no microscópio óptico de contraste de fase, na objetiva de 100X, sob óleo de imersão. A motilidade espermática é estimada de forma subjetiva, sendo analisada sob microscopia óptica, com uma gota do sêmen entre lâmina e lamínula, estimando-se sua porcentagem visualmente.

As médias do volume do ejaculado não diferiram entre os touros Angus e Nelore (3 ml e 3,75 ml, respectivamente) e estão dentro da normalidade de acordo com o Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 2013) para touros. Quanto ao aspecto do sêmen, 96,85% das amostras coletadas apresentaram sêmen com aspecto concentrado, e 3,15% das amostras exibiam um aspecto aquoso. Para a determinação da concentração foi realizado a diluição em solução formol-salino imediatamente após a coleta a campo, para realização da

contagem espermática, foi utilizado a câmara de Neubauer em microscópio óptico comum, conectado ao um computador pelo programa Sperm Class Analyzer® na objetiva 40X.

O aspecto do sêmen varia de acordo com a concentração espermática, isto é, o aspecto concentrado indica uma maior concentração de espermatozoides na amostra, seguido do leitoso, seroso e o aquoso (MARTINS; DODE; SILVA, 2016; MARTINS, 2015), como indicaram nossos resultados.

Na seleção de reprodutores o perímetro escrotal é uma característica hereditária, sendo necessário na hora da escolha realizar uma avaliação minuciosa, pois o perímetro escrotal demonstra ser favorável à diminuição dos defeitos espermáticos no ejaculado, como motilidade, vigor, morfologia e concentração espermática (Siqueira, et al., 2013). A mensuração testicular pode ser utilizada como padrão de seleção de touros, tendo esta, variação entre idade. Nos touros avaliados neste estudo conseguimos identificar variação entre 36cm e 38cm de circunferência escrotal, estando todos dentro dos padrões estabelecidos.

Após a avaliação por meio convencional através de testes convencionais com auxílio do microscópio óptico, o sêmen foi submetido a uma nova avaliação sendo ela realizada com auxílio do programa Sperm Class Analyzer®. Os sistemas computadorizados (CASA), é uma ferramenta muito importante para realização da avaliação cinética espermática, fornecendo informações precisas e objetivas, com alta repetibilidade, configuração de sistema fácil, capacidade de quantificar um maior número de células com padrão de motilidade heterogêneo, em um curto período de tempo, além de fornecer informações adicionais sobre características de movimentação celular, funções essas que não seriam possíveis através do método convencional (VERSTEGEN et al., 2012).

Nos testes convencionais “métodos de coloração” são empregados, com o uso de corantes fluorescentes que aumentam a possibilidade de uma análise mais criteriosa quanto a integridade estrutural do espermatozoide. Contudo, a quantidade de espermatozoide examinado por meio dessa técnica não ultrapassa a análise de 200 espermatozoides, visto que, com o uso do sistema automatizado é possível examinar em torno de 30.000 espermatozoides em menos de um minuto (Arruda, 2010), se mostrando assim, uma técnica muito mais vantajosa e eficaz dentro da reprodução. A avaliação automatizada da motilidade, morfologia e vigor dos espermatozoides é importante devido ao fato da cinética espermática ter relevância na determinação do potencial de fertilidade dos espermatozoides (MATOS et al., 2018).

Com a utilização dos programas computadorizados conseguimos obter uma avaliação espermática mais objetiva e técnica, além de nos possibilitar maior repetibilidade das avaliações do que a capacidade humana nos permite identificar, como os padrões da motilidade e morfologia, que através da utilização do programa Sperm Class Analyzer[®], conseguimos identificar normalidades espermáticas que com a realização do teste convencional não conseguiríamos identificar, obtendo assim maior aproveitamento e sucesso na reprodução (CELEGHINI et al., 2010).

As médias, os desvios-padrão, os coeficientes de variação e os valores mínimos e máximos obtidos com uso do programa Sperm Class Analyzer[®], apresentam-se na **Tabela 1**.

Tabela 1. Médias e desvios padrões para a motilidade, motilidade progressiva, circunferência escrotal, vigor, defeitos maiores, defeitos menores, defeitos totais.

CARACTERISTICAS	MÉDIA ± DESVIO PADRÃO
MOTILIDADE (%)	46,05 ± 26,09
MOTILIDADE PROGRESSIVA (%)	31,72 ± 21,84
CIRCUNFERÊNCIA ESCROTAL (CM)	36,55 ± 1,14
VIGOR (0-5)	3,44 ± 0,78
DEFEITOS MAIORES (%)	11,72 ± 6,72
DEFEITOS MENORES (%)	12,88 ± 4,02
DEFEITOS TOTAIS (%)	25,27 ± 9,18

Fonte: SCA. Classificação Andrológica, conforme banco de dados disponibilizados pelo programa.

A média e desvio padrão observada para motilidade espermática, motilidade progressiva, circunferência escrotal, vigor foi de 46,05 ± 26,09, 31,72 ± 21,84, 36,55 ± 1,14 e 3,44 ± 0,78, respectivamente. Quanto às características morfológicas, foi observada média de 11,72 ± 6,72, 12,88 ± 4,02 e 25,27 ± 9,18 %, para os defeitos maiores e defeitos menores e defeitos espermáticos totais, respectivamente.

Tabela 2. Análise estatística das médias \pm erro padrão de defeitos morfológicos de espermatozoides de touros da raça Aberdeen Angus e Nelore.

CARACTERÍSTICAS	MÉDIA \pm DESVIO PADRÃO
ACROSSOMA	0,52 \pm 1,50
GOTA PROTOPLASMÁTICA PROXIMAL	2,94 \pm 0,82
CABEÇA PEQUENA	00 \pm 00
CAUDA ENROLADA NA CABEÇA	0,47 \pm 0,87
CABEÇA ISOLADA PATOLÓGICA	0,94 \pm 1,24
CABEÇA ESTREITA NA BASE	0,23 \pm 0,97
CABEÇA PERIFORME	1,23 \pm 1,82
CABEÇA PEQUENA NORMAL	00 \pm 00
CABEÇA CONTOURNO ANORMAL	00 \pm 00
POUCH FORMATION	0,11 \pm 0,48
CABEÇA ULCERADA	0,11 \pm 0,48
CAUDA DOBRADA C/ PSEUDOGOTA	0,58 \pm 1,22
KNOBBED SPERM	00 \pm 00
FORMAS TERATOGÊNICAS	00 \pm 00
PEÇA INTERMEDIÁRIA	1,54 \pm 2,37
CAUDA FORTEMENTE DOBRADA	3,41 \pm 2,03
CAUDA FORTEMENTE ENROLADA	0,43 \pm 1,50
CABEÇA DELGADA	00 \pm 00
CABEÇA GIGANTE	00 \pm 00
CABEÇA CURTA, LARGA, CHATA	00 \pm 00
CABEÇA ISOLADA NORMAL	4,42 \pm 2,89
ABAXIAL, RETROAXIAL, OBLÍQUO	0,47 \pm 0,79
CAUDA DOBRADA / CAUDA ENROLADA	4,88 \pm 1,11
GOTA PROTOPLASMÁTICA DISTAL	1,82 \pm 1,13

Fonte: SCA. Classificação Andrológica, conforme banco de dados disponibilizados pelo programa.

É desejável que o total de defeitos menores do ejaculado seja menor ou igual a 20% (CBRA, 2013), sendo assim tanto as amostras dos raça Aberdeen Angus e Nelore, se mantiveram dentro do limite recomendado. Obteve-se destaque em defeitos menores a média e desvio padrão observada gota proximal, cauda fortemente dobrada, cabeça isolada normal, cauda dobrada foi de 2,94 \pm 0,82, 3,41 \pm 2,03, 4,42 \pm 2,89, 4,88 \pm 1,11.

Considerando todos os animais avaliados, 90% (n=10) dos touros da raça Nelore e Angus foram considerados aptos à reprodução, 7% (n=5) foram considerados inaptos e 3% (n=3) foram considerados duvidosos. Demonstrando que a maioria dos animais possuía padrão seminal desejável para utilização na reprodução, tanto por monta natural como IA (inseminação artificial). Os animais considerados inaptos e duvidosos, foram submetidos a tratamento, para reavaliação na próxima estação de monta.

CONCLUSÃO

Com este estudo podemos chegar à conclusão de que o uso do programa Sperm Class Analyzer®, nos proporcionou melhores resultados, quanto a avaliação seminal, visto que,

com o seu uso, foi possível identificar defeitos que ao ser realizado no exame convencional não poderíamos identificar, por mais experiente e qualificado que o profissional seja existe limitações, e defeitos mínimos podem interferir em um bom resultado reprodutivo, sendo essa então uma ferramenta de auxílio na área da reprodução.

REFERÊNCIAS

ABC – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES. Pecuária de corte - Raças. Disponível em: . Acesso em: 21 abril 2023.

ABC – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES. Pecuária de corte - Raças. Disponível em: . Acesso em: 20 abril 2023.

ACNB – ASSOCIAÇÃO DOS CRIADORES DE NELORE DO BRASIL. A origem. Disponível em: . Acesso em: 19 abril 2023.

ARRUDA, R. P.; CELEGHINI, E. C. C.; GARCIA, A. R. et al. **Morfologia espermática de touros: interpretação e impacto na fertilidade**. Revista Brasileira de Reprodução Animal. v. 39, n. 1, p. 47-60. 2015.

Arruda RL, Orros IR, Passos TS, Costa e Silva EV, Zúcaro CESN. **Técnicas para avaliação laboratorial da integridade estrutural e funcional do sêmen congelado de touros**. Rev Bras Reprod Anim, v.34, p.168-184, 2010b.

ASBIA – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL. Relatório INDEX ASBIA – Importação, Exportação e Comercialização de Sêmen -. Disponível em: . Acesso em: 21 de abril 2023.

Celeghini ECC, Andrade AFC, Fernandes C, Nascimento J, Ticianelli JS, Arruda RP. **Damage assessment of the equine sperm membranes by fluorimetric technique**. Braz Arch Biol Technol, v.53, p.1285-1292, 2010^a.

CBRA – COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 3^a edição. Belo Horizonte: CBRA. 2013.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 19 de abril de 2023.

IBGE Instituto Brasileiro De Geografia E Estatística - 2021. Produção da Pecuária Municipal 2010. Disponível em: . Acesso em: 19 abr. 2023, 16:20.

LARSSON B, Rodríguez-Martínez H. **Can we use in vitro fertilization tests to predict semen fertility?** Anim Reprod Sci, v.60/61, p.327-336, 2010.

MARTINS, C. F.; DODE, M. A. N.; SILVA, A. E. D. F. **Atlas de morfologia espermática bovina**. Embrapa. 2016. MARTINS, R. T. **Avaliação reprodutiva em touros**. Monografia (Graduação) – Universidade Tuiuti do Paraná. Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde. 2015.

MATOS DL, Araújo AA, Roberto IG, Toniolli R. **Análise computarizada de espermatozóides: revisão de literatura.** Rev Bras Reprod Anim, v.32, p.225-232, 2018.

QUINTERO-MORENO, A.; MIRÓ, J.; RIGAU, A.T. et al. **Identification of sperm subpopulations with specific motility characteristics in stallion ejaculates.** Theriogenology, v.59, p.1973-1990, 2013.

VERSTEGEN J, Iguer-Ouada M, Onclin K. **Computer assisted semen analyzers in andrology research and veterinary practice.** Theriogenology, v.57, p.149-179, 2012.