



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

PARÂMETROS BIOMÉTRICOS, FISIOLÓGICOS E REPRODUTIVOS EM TOUROS  
DAS RAÇAS NELORE E TABAPUÃ, E AVALIAÇÃO DO ESTRESSE NA COLETA DE  
SÊMEN POR ELETROEJACULAÇÃO MANUAL E AUTOMÁTICA.

**TULIO CESAR NEVES**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS**

**Brasília - DF**

**2018**



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

PARÂMETROS BIOMÉTRICOS, FISIOLÓGICOS E REPRODUTIVOS EM TOUROS  
DAS RAÇAS NELORE E TABAPUÃ, E AVALIAÇÃO DO ESTRESSE NA COLETA DE  
SÊMEN POR ELETROEJACULAÇÃO MANUAL E AUTOMÁTICA.

TULIO CESAR NEVES

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS

**Linha de pesquisa:** BIOTÉCNICAS DA REPRODUÇÃO ANIMAL

**Orientador:** Prof. Dr. IVO PIVATO

Brasília – DF

2018

# UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA E CATALOGAÇÃO

NEVES, T. C. **Parâmetros biométricos, fisiológicos e reprodutivos em touros das raças Nelore e Tabapuã, e avaliação do estresse na coleta de sêmen por eletroejaculação manual e automática.** Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília. 2018, 59 p. Dissertação de Mestrado.

Documento formal, autorizando reprodução desta dissertação de mestrado para empréstimo ou comercialização, exclusivamente para fins acadêmicos, foi passado pelo à Universidade de Brasília e acha-se arquivado na Secretaria do Programa. O autor e o seu orientador reservam para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor ou do seu orientado. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

NT917p      Neves, Túlio César  
Parâmetros biométricos, fisiológicos e reprodutivos em touros das raças Nelore e Tabapuã, e avaliação do estresse r coleta de sêmen por eletroejaculação manual e automática. / Túlio César Neves; orientador Ivo Pivato. -- Brasília, 2018. 59 p.

Dissertação (Mestrado - Mestrado em Ciência Animal) -- Universidade de Brasília, 2018.

1. Avaliação andrológica em touros. 2. Biometria testicular e fisiologia da reprodução raças Nelore e Tabapuã 3. Testosterona e cortisol Touros. 4. Avaliação estresse coleta por eletroejaculação. I. Pivato, Ivo, orient. II. Título.

# **FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**PARÂMETROS BIOMÉTRICOS, FISIOLÓGICOS E REPRODUTIVOS EM TOUROS DAS RAÇAS NELORE E TABAPUÃ, E AVALIAÇÃO DO ESTRESSE NA COLETA DE SÊMEN POR ELETROEJACULAÇÃO MANUAL E AUTOMÁTICA.**

**TULIO CÉSAR NEVES**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO  
SUBMETIDA AO PROGRAMA DE  
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
ANIMAIS, COMO PARTE DOS  
REQUISITOS NECESSÁRIOS À  
OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE  
EM CIÊNCIAS ANIMAIS.**

**APROVADA POR:**

---

**Prof. Dr. IVO PIVATO –UnB (ORIENTADOR)**

---

**Profa. Dra. Carolina Madeira Lucci**

---

**Profa. Dra. Fernanda Paulini**

**BRASÍLIA/DF, \_\_\_\_\_, DE \_\_\_\_\_ DE 20\_\_**



Dedico este trabalho ao meu filho Thiago.  
Um ser iluminado!

“É muito melhor lançar-se em busca de conquistas grandiosas, mesmo expondo-se ao fracasso, do que alinhar-se com os pobres espíritos, que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem numa penumbra cinzenta, onde não conhecem nem vitória, nem derrota.”

(Theodore Roosevelt)

## **AGRADECIMENTO**

Agradeço à Deus, o dom da vida e o livre arbítrio...

Aos meus pais, por terem sido bons exemplos.

Aos velhos amigos Júlio Cesar, Napier, Lysandra, por estarem dividindo esta caminhada e Norberto pelo apoio.

Ao novo amigo Vilton Junior, por ter num momento difícil, estendido a mão para seguirmos em frente.

Aos alunos Hiago, Fernando, Matheus e Carlos Muller, que foram dedicados na coleta dos dados, e estão no caminho certo para serem bons profissionais.

Ao Sr. Carlos Alberto Recci, por ter colocado a Fazenda Santa Paula e os animais à disposição deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Helder Louvandini, Regina, Fabiene, e Vanderlei pelas análises hormonais e estatísticas.

Ao meu orientador, Prof. Ivo Pivato, que neste período demonstrou com simplicidade e humanidade, que é possível guiar alunos por caminhos novos, com gentileza e sabedoria.

“Agradeço todas as dificuldades que enfrentei; não fosse por elas, eu não teria saído do lugar. As facilidades nos impedem de caminhar. “

(Chico Xavier)

## ÍNDICE

LISTA DE TABELAS .....	ix
LISTA DE FIGURAS .....	x
LISTA DE SÍMBOLOS .....	xi
RESUMO .....	xii
ABSTRACT .....	xiv
1 INTRODUÇÃO .....	1
1.1 Justificativa.....	2
1.2 Objetivos.....	2
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1 Fertilidade em Touros .....	4
2.1.1 Eletroejaculador .....	5
2.2 Parâmetros hormonais .....	6
2.2.1 Testosterona .....	6
2.2.2 Cortisol .....	7
2.3 Métodos de colheita de sêmen.....	8
2.4 Fisiologia .....	8
2.4.1 Temperatura Retal .....	8
2.4.2 Frequência Cardíaca .....	9
2.4.3 Frequências Respiratória .....	9
2.5 Bem-estar animal em touros submetidos à eletroejaculação (EEJ) .....	9
2.6 Biometria .....	10
2.6.1 Peso Corporal.....	10
2.6.2 Morfologia testicular .....	11
2.6.3 Classificação Andrológica por Pontos - CAP.....	11
3 MATERIAL E MÉTODOS .....	13



3.1 Testosterona .....	14
3.2 Cortisol .....	14
3.3 Análises de Testosterona e Cortisol.....	15
3.4 Parâmetros Fisiológicos .....	15
3.5 Parâmetros Metabólicos e Hematológicos.....	15
3.6 Biometria .....	16
3.7 Avaliação Andrológica .....	17
3.8 Delineamento experimental e tratamento dos dados .....	17
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	18
4.1 Biometria entre raças .....	18
4.2 Espermograma .....	20
4.3 Horário de coleta testosterona .....	24
4.4 Correlações de Testosterona Média, Perímetro Escrotal e Volume Testicular com parâmetros reprodutivos .....	25
4.5 Avaliação do estresse.....	29
5 CONCLUSÃO .....	36
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	37

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Classificação andrológica por pontos sugerida para touros da subespécie <i>Bos taurus indicus</i> , baseada no perímetro escrotal e nas características física e morfológicas do sêmen .....	11
Tabela 2 - Médias de perímetro torácico, circunferência escrotal, altura testicular, largura testicular, pele dobrada e volume testicular .....	18
Tabela 3 - Médias de motilidade, turbilhonamento, vigor, concentração, defeitos maiores, defeitos menores e defeitos totais em função da raça e das idades .....	21
Tabela 4 - Níveis médios de testosterona, desvio-padrão, coeficiente de variação e valores mínimos e máximos em relação a faixas etárias .....	22
Tabela 5 - Níveis médios de testosterona, desvio-padrão, coeficiente de variação e valores mínimos e máximos em relação a raças.....	23
Tabela 6 – Concentrações plasmáticas de testosterona em função dos períodos de colheita por raça..	24
Tabela 7 - Correlações de Pearson para Testosterona Média, Perímetro Escrotal e Volume Testicular com parâmetros reprodutivos .....	25
Tabela 8 - Classificação Andrológica por Pontos segundo Fonseca (1997), Testosterona nos momentos T1 e T2, Testoserona média 42 touros .....	27
Tabela 9 - Classificação Andrológica por Pontos, Testosterona e correlação por Raça.....	28
Tabela 10 - Médias de frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura retal e glicose sérica dos animais, antes e depois da EEJ em função da raça (82 touros).....	29
Tabela 11 - Médias de frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura retal, glicose sérica dos animais, antes e depois da EEJ em função do método (82touro).....	31
Tabela 12 - Médias de frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura retal, glicose sérica dos animais e cortisol, antes e depois da EEJ em função do método (42touro) .....	32
Tabela 13 – Níveis de glicose e cortisol séricos em função das raças e modos de coleta na EEJ .....	32

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Correlação Testosterona x CAP, independente de raça. ....	28
Figura 2 - Avaliações de Glicose Sérica, Temperatura Retal, Frequência Cardíaca e respiratória de todos os 82 touros do experimento nos momentos antes e depois da EEJ. ....	35
Figura 3 - Distribuição das concentrações de cortisol antes e depois da EEJ e correlações de cortisol e glicose sérica total, modo automático e modo manual dos 42 touros avaliados na segunda fase. ....	35

**LISTA DE SÍMBOLOS**

-	Menos
%	Por cento
<	Menor
=	Igual
>	Maior
±	Mais ou menos
®	Marca registrada
cm	Centímetro
cm <sup>3</sup>	Centímetros cúbicos
Kg	Quilograma
m	Metros
m <sup>2</sup>	Metros quadrados
mL	Mililitro
mmol	Milimolar
n	Número
ng	Nanograma
°C	Grau Celsius
r	Coefficiente de correlação de Pearson

## RESUMO

### PARÂMETROS BIOMÉTRICOS, FISIOLÓGICOS E REPRODUTIVOS EM TOUROS DAS RAÇAS NELORE E TABAPUÃ, E AVALIAÇÃO DO ESTRESSE NA COLETA DE SÊMEN POR ELETROEJACULAÇÃO MANUAL E AUTOMÁTICA.

Tulio César Neves<sup>1</sup>, Ivo Pivato<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Médico Veterinário/ Mestrando em Ciências Animais – PPG/UnB- Brasília- DF

<sup>2</sup>Médico Veterinário/ Doutor – UnB – Brasília-DF

Objetivou-se neste trabalho, correlacionar os níveis de testosterona e cortisol com parâmetros reprodutivos, clínicos e metabólicos, visando obter maiores conhecimentos a respeito da fertilidade de touros Nelore e Tabapuã, e ainda, verificar se o método de coleta de sêmen por eletroejaculação com equipamentos manuais ou automáticos implicaria em estresse à estes animais. Foram utilizados na primeira fase 82 touros sendo 42 da raça Nelore e 40 da raça Tabapuã, e na segunda 42 touros, sendo 22 Nelores e 20 Tabapuã, com idades de 36,48 e 60 meses, criados sob condições extensivas, visando avaliar a biometria testicular, espermograma e dosar concentrações plasmáticas de testosterona, correlacionando com a CAP (classificação andrológica por pontos) e dosagens de cortisol, frequência cardíaca (FC), respiratória (FR), temperatura retal (TR) e glicose, antes e após a EEJ (eletroejaculação), para verificação do nível de estresse dos animais. Para perímetro torácico encontrou-se diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre medidas nas faixas etárias dentro das raças. Para perímetro escrotal e largura dos testículos raça Nelore demonstrou desenvolvimento inicial, contudo as medidas aos 60 meses para a raça Tabapuã foram superiores. Para volume testicular, ocorreu diferença apenas aos 60 meses na raça Nelore, e em todas as faixas etárias no Tabapuã, sendo que esta foi superior as médias da raça Nelore. Para turbilhonamento, vigor e concentração, a raça Nelore também foi superior à raça Tabapuã, e não se obteve diferença significativa entre as faixas etárias nas duas raças. Para morfologia espermática apenas defeitos menores foram superiores na raça Tabapuã. A CAP média da raça Nelore foi de 64,3 e a Tabapuã foi de 58,75 pontos. Não se observou diferença nas médias de testosterona por faixa etária ou por raça, contudo a correlação entre idade e testosterona foi alta nas duas raças. Não se observou diferença das medias de testosterona entre os horários avaliados. A raça Nelore apresentou uma correlação CAP x Testosterona moderada, enquanto na raça Tabapuã, observou-se uma forte correlação

entre as variáveis,  $r=0,89$ . Não foi observada diferenças entre FC, FR, TR e glicose, antes e após a EEJ, contudo diferença significativa ( $p<0,05$ ) foi observada para entre o método automático, apresentando incremento na concentração sérica de cortisol de  $12,27\pm 15,15\text{mmol/ml}$ , e para o método manual apresentou média de  $30,35\pm 23,05\text{mmol/ml}$ , demonstrando ser mais estressor que o primeiro.

Palavras-chave: Fertilidade, Andrologia, Bem-estar animal, Testosterona, Cortisol.

## ABSTRACT

### BIOMETRIC, PHYSIOLOGICAL AND REPRODUCTIVE PARAMETERS IN BULLS OF THE NELORE AND TABAPUÃ BREEDS, AND EVALUATION OF THE STRESS IN THE SEMEN COLLECTION BY MANUAL AND AUTOMATIC ELETROEJACULATION

The objective of this study was to correlate testosterone and cortisol levels with reproductive, clinical and metabolic parameters, aiming to obtain more knowledge about the fertility of Nelore and Tabapuã bulls, and also to verify if the method of semen collection by electroejaculation with equipment manual or automatic would imply stress to these animals. In the first phase, 82 bulls were studied, 42 Nelore and 40 Tabapuã bulls, and in the second phase 42 bulls, 22 Nellores and 20 Tabapuã, aged 36, 48 and 60 months, under extensive conditions, to evaluate biometrics testicular, spermogram and serum levels of testosterone, correlating with CAP and cortisol, heart rate (HR), respiratory (RF), rectal temperature (TR) and glucose, before and after EEJ ( electroejaculation), to verify the stress level of the animals. For thoracic circumference, a significant difference ( $p < 0.05$ ) was found between measurements in the age groups within the breeds. For scrotal perimeter and width of the Nelore race testicles showed initial development, however the measurements at 60 months for the Tabapuã breed were superior. For testicular volume, there was difference only at 60 months in the Nelore breed, and in all age groups in Tabapuã, which was higher than the Nelore averages. For turbulence, vigor and concentration, the Nelore breed was also superior to the Tabapuã breed, and no significant difference was found between the age groups in the two breeds. For spermatic morphology only minor defects were higher in the Tabapuã breed. The mean CAP of the Nelore breed was 64.3 and Tabapuã was 58.75 points. No difference was observed in testosterone averages by age or race, but the correlation between age and testosterone was high in both breeds. There was no difference in testosterone means between the evaluated schedules. The Nelore breed had a moderate CAP x testosterone correlation, whereas in the Tabapuã breed, a strong correlation was observed between the variables,  $r = 0.89$ . No differences were observed between HR, RR, TR and glucose, before and after the JS, but a significant difference ( $p < 0.05$ ) was observed for the automatic method, with an increase in serum cortisol concentration of  $12.27 \pm 15$ ,  $15$  mmol / ml, and for the manual method presented a mean of  $30.35 \pm 23.05$  mmol / ml, demonstrating to be more stressor than the first one.

Keywords: Fertility, Andrology, Animal welfare, Testosterone, Cortisol

## 1 INTRODUÇÃO

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2016), o Brasil tem o maior rebanho comercial do mundo, com mais de 218 milhões de bovinos. Cerca de 80% do rebanho é composto por animais de raças zebuínas (*Bos indicus*), que são animais de comprovada rusticidade e adaptação ao nosso ambiente, tendo a raça Nelore, predomínio dos animais.

O rebanho bovino brasileiro está em plena evolução, com melhoria contínua dos seus índices zootécnicos, se tornando cada dia mais produtivo e eficiente. A maior e melhor produção em área constante têm permitido que a pecuária brasileira se torne cada vez mais sustentável, uma referência no mundo inteiro (Arruda, 2015).

O mercado exige cada vez mais eficiência e eficácia nas técnicas de produção animal, para que a rentabilidade financeira se mantenha sustentável. A reprodução tem papel de destaque, pois é através desta que o rebanho pode crescer e ser melhorado geneticamente, contribuindo para o desenvolvimento da atividade.

Segundo a Associação Brasileira de Inseminação Artificial (ASBIA, 2014), o percentual de fêmeas inseminadas artificialmente nos últimos 5 anos disponíveis em seus relatórios, cresceu de 8,3% em 2009, para 12,8% em 2013, demonstrando um incremento anual na utilização da tecnologia. Contudo, também demonstra que cerca de, 87% do rebanho nacional depende da monta natural com utilização de touros para garantir a reprodução do rebanho. Estima-se que para 60 milhões de matrizes em idade reprodutiva, dispomos de uma população de 2 milhões touros, obedecidas as proporções touro:vaca de 1:25 até 1:50 já descritas em inúmeros trabalhos. Neste sentido, verifica-se que a fertilidade do touro influenciando na evolução genética do rebanho e nas finanças da propriedade é de grande importância.



A seleção de touros a serem utilizados como reprodutores é uma das etapas mais importantes para os rebanhos que adotam o sistema de monta natural, principalmente ao considerar que o macho transmite 50% de seu genótipo a um grande número de fêmeas (Barbosa et al, 2005). A seleção de touros por meio da avaliação andrológica, que é uma técnica empregada na reprodução animal, visa obter avaliação completa da capacidade sexual dos machos, ajudando a eleger animais aptos à atividade reprodutiva. Assim, o touro contribuirá para a melhoria da fertilidade e conseqüente aumento da lucratividade do rebanho (Fonseca et al., 1997).

A endocrinologia reprodutiva em fêmeas tem avançado bastante, contudo o estudo nos machos tem tido menor interesse dos pesquisadores, e os atuais avanços genéticos, nutricionais e de manejo podem influenciar diretamente os níveis de testosterona e cortisol, sendo correlacionadas com uma maior fertilidade e/ou produtividade dos animais.

A avaliação andrológica com colheita do sêmen por eletroejaculação é a mais empregada atualmente, pois dispensa treinamento do touro como no caso da vagina artificial. Poucos estudos foram realizados à respeito do estresse provocado pelo método de colheita por eletroejaculação e suas conseqüências fisiológicas para os animais. O bem-estar animal, que vem sendo motivo de preocupação por toda a cadeia produtiva pecuária, exige cada dia mais um produto oriundo de boas práticas de manejo nas propriedades.

## **1.2 Justificativa**

O presente trabalho se justifica pela necessidade de maiores conhecimentos sobre o comportamento fisiológico de touros em regime de pastejo na região do cerrado, sob condições de estresse térmico e nutricional da região.

Touros submetidos à colheita de sêmen por eletroejaculação podem ter seus indicadores fisiológicos e comportamentais de bem-estar alterados em resposta aos estímulos elétricos aplicados durante o processo de eletroejaculação, tendo poucos estudos realizados à respeito, principalmente em zebuínos.

## **1.3 Objetivos**

Este trabalho teve como objetivo geral, contribuir para um maior aprofundamento teórico-prático dentro da Andrologia Bovina, visando auxiliar no conhecimento sobre avaliação do desempenho reprodutivo. Como objetivos secundários, correlacionar os níveis de

testosterona e cortisol com parâmetros reprodutivos, clínicos e metabólicos, visando obter maiores conhecimentos a respeito da fertilidade de touros, buscando propor uma abordagem mais detalhada no que tange a reprodução dos touros. Avaliar e comparar o potencial reprodutivo dos touros Nelore e Tabapuã sob sistema de pastejo extensivo e verificar se o método de coleta de sêmen por eletroejaculação com equipamento manual ou automático implicaria em estresse à estes animais e poderia influenciar na avaliação andrológica dos animais

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Fertilidade em Touros

A fertilidade é uma característica de grande importância na pecuária, pois define os resultados zootécnicos e financeiros da atividade. Sendo assim determinar o potencial reprodutivo de um touro é uma forma de melhorar os resultados reprodutivos. O exame andrológico é o meio pelo qual as funções reprodutivas são avaliadas podendo-se diagnosticar anormalidades genitais, problemas físicos ou qualidade espermática inferior que podem determinar média ou baixa fertilidade e até mesmo esterilidade (Silva et al, 1993).

Durante a avaliação, os órgãos genitais externos são examinados por inspeção e palpação, já os internos são examinados por palpação retal avaliando-se as dimensões, a simetria, a consistência e a mobilidade testicular de acordo com a idade a raça do animal (Barbosa, et al 2005).

Segundo Hafez (2004), os limites mínimos aceitáveis das características seminais para que um touro esteja apto a reprodução é possuir mais de 500 milhões de espermatozoides por ml; mais de 50% de espermatozoides com movimentos retilíneos progressivos; mais de 80% dos espermatozoides com morfologia espermática normal.

Barbosa, et al (2005) definem que o turbilhonamento mede a intensidade da onda de movimentação dos espermatozoides resultante da motilidade individual, do vigor e da concentração espermática numa escala de avaliação varia de zero a cinco.

A motilidade é dada em porcentagem e significa o número de espermatozoides com motilidade progressiva em cada 100 deles observados (Fonseca et al., 1991). A motilidade progressiva individual ou vigor do espermatozoide é dada em uma escala de 0 a 5, que representa a intensidade de deslocamento da célula no campo do microscópio (Mies Filho, 1977). A concentração é dada pela quantidade de espermatozoides em um determinado volume do ejaculado (Silva, et al 1987).

Para o CBRA (1998), a avaliação do sêmen pode ser dividida em características físicas e morfológicas. As características físicas do ejaculado são: volume, aspecto, turbilhonamento (movimento de massa), motilidade, vigor e concentração espermática. As características morfológicas dos espermatozoides podem ser classificadas em anormalidades de cabeça e de cauda (CBRA, 1998), ou podem ser agrupadas em defeitos maiores, defeitos menores e defeitos totais (Blom, 1973). Kastelic et al.,(1997) A morfologia das células espermáticas são agrupadas em alterações de maior importância, defeitos maiores, e alterações menos importantes, defeitos menores, onde o número de espermatozoides anormais não pode ter mais de 20% de defeitos de cabeça e não mais do que 30% devem ser anormais no total.

### **2.1.1 Eletroejaculador**

O método da EEJ foi desenvolvido como alternativa para a coleta de sêmen dos animais, a partir das observações feitas pela primeira vez no século XIX, onde a ejaculação ocorria quando as pessoas eram eletrocutadas (Ball, 1974). Em 1888, Remy e Batelli estimularam um gânglio situado sobre a veia cava posterior, na altura da veia renal e obtiveram vibrações intensas das paredes das glândulas vesiculares e com isso a ejaculação em cobaias (Mascarenhas, Gomes, 1950). Em 1936, Gunn após exaustivos experimentos iniciados em 1932 com cobaias, publicou os primeiros resultados de coletas em carneiros utilizando um eletrodo no reto e outro na região lombar dos animais, fazendo passar um estímulo elétrico de 30 volts com corrente alternada de 50 ciclos e ritmo de 5 a 10 segundos para obter a ejaculação (Severo, 2013).

Em 1950, os brasileiros Mascarenhas e Gomes publicaram o trabalho intitulado: “Contribuição ao estudo da eletro-ejaculação em bovinos” e obtiveram sucesso em um grande número de colheitas de sêmen com o uso da estimulação elétrica.

As formas de onda estão diretamente ligadas à sensibilidade do animal, em que a onda pulsada mais estreita com frequências em torno de 30 Hz se assemelha a onda senoidal com frequência de 60 Hz produzindo reações de menor intensidade nos touros (Metzke Filho, 2017).

Contudo, devido à liberação de cortisol que o estresse acarreta sobre o organismo, suspeita-se que o sêmen possa ter sua qualidade modificada por estímulos estressantes como a eletroejaculação (Barbosa et al, 2005).

## **2.2 Parâmetros hormonais**

### **2.2.1 Testosterona**

O hormônio testosterona é produzido pelas células de Leydig, sendo um andrógeno, tem as funções de estimular os estágios finais da espermatogênese e estimular a maturação espermática a nível epididimário, estimular o crescimento, desenvolvimento e secreção das glândulas sexuais acessórias, desenvolvimento de características sexuais secundárias, e ainda influenciar no comportamento sexual dos machos, tornando-os mais ativos e dominantes no rebanho (Hafez, 1995)

As gonadotrofinas FSH (hormônio folículo estimulante) e LH (hormônio luteinizante) controlam a proliferação e a diferenciação das células de Sertoli e Leydig desde a fase pós-natal, de modo que os esteróides e fatores de crescimento secretados por estas células têm ação direta ou indireta sobre o desenvolvimento das células germinativas. Especificamente na espécie bovina, o início da puberdade está associado à habilidade das células de Leydig em responder ao estímulo do LH produzindo quantidades crescentes de testosterona que, por sua vez, controlam a diferenciação das células de Sertoli e, conseqüentemente, várias de suas funções no desenvolvimento da espermatogênese (Silva Junior e França, 2001).

No início da atividade reprodutiva dos machos, as células de Leydig, estimuladas pelo LH (Hormônio Luteinizante), secretam andrógenos como a testosterona, que se difundem dentro das células de Sertoli adjacentes, estimulando a atividade espermatogênica, e também se difundem no sangue, onde chegam hipotálamo e hipófise para bloquear a liberação adicional de LH, gerando feedback negativo (Hafez, 2000).

A função testicular, está sob a regência da estimulação das gonadotrofinas, que são controladas pela secreção do hormônio regulador de gonadotrofinas (GnRH) do hipotálamo e por outros hormônios, como por exemplo, hormônio estimulante da tireóide (Hafez, 2000). A testosterona é o andrógeno mais importante produzido pelo testículo e sua concentração sobe do nascimento até os 11 meses de idade, quando apresenta um aumento significativo a partir dos 12 meses, permanecendo constante na fase adulta e decrescendo com a idade mais avançada,

Martins (2004), estudou sete grupamentos genéticos em condições tropicais, com idades variando de 14 a 24 meses, verificando que a concentração de testosterona aumentou a cada mês de colheita no controle Nelore. Por outro lado, outros pesquisadores brasileiros descreveram concentrações médias de testosterona na fase adulta, de 1,24 ng/mL aos 24 meses (Santos et al.,1997); 3,1 ng/mL aos 27 meses e 4,0 ng/mL aos 39 meses de idade (Barbosa et al.,1992);

A endocrinologia da reprodução envolve mecanismos que repercutem diretamente nas funções desempenhadas pelo reprodutor. Os níveis hormonais em machos bovinos têm sido estudados com muito menos intensidade do que a endocrinologia das fêmeas. Post *et al.* (1987) descreveram que avaliações da testosterona circulante possam ser indicadores úteis para a fertilidade de um rebanho de tal modo que, a resposta da testosterona em touros jovens seja um preditor efetivo da fertilidade, além de estar relacionada com a idade à puberdade em tourinhos.

A testosterona é essencial à função reprodutiva dos machos, pois atua estimulando os estádios finais da espermatogênese, prolonga a vida útil dos espermatozóides no epidídimo e estimula o crescimento, o desenvolvimento e a atividade secretora dos órgãos sexuais do macho, bem como, as características sexuais secundárias; o comportamento sexual ou a libido do macho também são controladas pelos andrógenos (Hafez, 1995).

### **2.2.2 Cortisol**

A determinação dos valores séricos de cortisol mostra-se útil, como método para avaliar os níveis de estresse bovino (Ottersbach et al 2008). Eleva-se rapidamente após aplicação de estímulos estressantes e caracteriza-se como um excelente indicador de estresse agudo (Randall et al., 2000). Suas ações metabólicas podem ser detectadas dentro de trinta minutos e inclui a inibição da liberação de ACTH. A resposta nas concentrações séricas dos

glicocorticóides é proporcional à intensidade do estresse (McDonald, 1989; Cunningham, 1997).

Devido as suas características, o cortisol difunde-se por todo organismo e pode ser mensurado através da saliva, das fezes e a partir de amostras de sangue, sendo mensuradas através de radioimunoensaio (RIA) (Berne et al., 2000) e o ensaio imunoenzimático (EIA) (Chacón Pérez et al., 2004),

### **2.3 Métodos de colheita de sêmen**

Para realizar a colheita de sêmen podem ser utilizados diferentes métodos, entre eles, a eletroejaculação (EEJ), a vagina artificial e a massagem transretal das glândulas sexuais acessórias (Hafez, 2000; Palmer, 2005). De acordo com Henry (1998), os a eletroejaculação e a vagina artificial são os mais utilizados na rotina a campo.

A colheita pelo emprego da vagina artificial (VA), é a que mais se assemelha à condição de monta natural (Palmer, 2005). Este método é o mais indicado para evitar alterações comportamentais e fisiológicas nos animais. Contudo, a técnica mais utilizada para realizar o exame andrológico em bovinos e nos animais impossibilitados de efetuarem a monta é a EEJ (Mies Filho, 1987).

Eletroejaculadores são equipamentos eletrônicos construídos com a função de estimular os nervos simpáticos e parassimpáticos da pelve com oscilações ou pulsações de tensão e amperagem relativamente baixa para induzir a exposição peniana e subsequente liberação do sêmen (Ball, 1986).

### **2.4 Parâmetros Fisiológicos**

#### **2.4.1 Temperatura Retal**

A temperatura corporal dos animais depende da energia térmica armazenada por unidade de massa corporal, que pode ser aumentada pelos processos termogênico ou diminuída pela termólise. De acordo com Silva (2000) existem três mecanismos envolvidos na termogênese e termólise: Mecanismos Comportamentais (a fim de diminuir ou aumentar

exposição à energia térmica); Mecanismos Autônomos (envolvem funções orgânicas); Mecanismos Adaptativos (características de pele e pelame). Para que a atividade celular seja normal, o animal precisa ter seu ambiente interno estável com relação às flutuações externas, processo conhecido como homeotermia ou homeostase.

A temperatura retal dos bovinos, que fisiologicamente varia entre 37,5 e 39°C, também pode ser utilizada como indicador de bem-estar animal (MCDonald, 1989; Radostits, 2000).

Os animais mantêm sua temperatura interna relativamente constante (homeotermia) durante variações extremas de temperatura ambiental. A produção de calor ocorre como resultado da atividade metabólica, digestão do alimento, movimentos musculares e manutenção do tônus muscular e estresse (Radostits, 2000).

#### **2.4.2 Frequência Cardíaca**

O pulso cardíaco é o número de batimentos do coração por minuto, fisiologicamente compreendido entre 60 e 80 pulsos por minuto nos bovinos. Em situações de estresse agudo, os batimentos cardíacos mostram-se em níveis superiores ao normal, o que o classifica como um indicador de estresse (Radostits, 2000; Palmer, 2005, Marques Filho et al., 2008).

#### **2.4.3 Frequências Respiratória**

A frequência respiratória corresponde ao número de movimentos respiratórios por minuto e varia entre 30 e 35 movimentos por minuto. Ela sofre variações de acordo com a resposta física do organismo às mudanças climáticas (Radostits, 2000) e ao estresse (Marques Filho et al., 2008).

### **2.5 Bem-estar animal em touros submetidos à eletroejaculação (EEJ)**

Considera-se que o marco do bem-estar animal (BEA) foi em 1964, quando Ruth Harrison publicou o livro “Animal Machines” sobre como os animais de produção eram



tratados. A primeira lei geral de bem-estar animal surgiu no ano de 1822, na Grã-Bretanha (Ludetke et al., 2010).

Desde o ano de 1934 existe, no Brasil, o decreto de lei que sustenta obrigatoriamente a atenção para o bem estar animal com aplicação de penalidades para quem infringi-la. A primeira legislação brasileira que trata desse assunto é o Decreto Lei número 24.645, de julho de 1934(Brasil, 1934).

O manejo adequado dos animais está diretamente relacionado ao bem-estar animal. Isto tem despertado a atenção de profissionais, técnicos e pecuarista com vista a atender as exigências do mercado consumidor oferecendo assim qualidade intrínseca e segurança alimentar (Quintiliano &Costa, 2006).

A alteração da frequência cardíaca foi mais pronunciada em touros submetidos à EEJ para a colheita de sêmen quando comparada a de animais que foram submetidos à massagem transretal das glândulas sexuais acessórias ou a nenhum procedimento estressante (Marques Filho et al., 2008). Os níveis plasmáticos de cortisol, principal indicador endócrino de estresse, assim como o de PRL e de P4, elevaram-se em touros submetidos à EEJ (Marques Filho et al., 2008).

A caracterização dos estímulos elétricos da EEJ como o fator desencadeador de estresse, tem estimulado a realização de pesquisas que visam minimizar os efeitos maléficos da EEJ sobre os animais (Palmer et al., 2005).

## **2.6 Biometria e Classificação Andrológica por Pontos**

### **2.6.1 Morfologia testicular**

A circunferência escrotal (CE) é uma medida biométrica importante para o prognóstico do futuro reprodutivo em bovinos, por possuir alta herdabilidade, ser de fácil mensuração, de alta confiabilidade e repetibilidade, o que viabiliza sua utilização como um dos parâmetros de seleção de touros e qualidade do sêmen. Normalmente, tem-se relacionado perímetro escrotal com precocidade sexual, observando correlação 8 favorável do perímetro escrotal com puberdade precoce nos filhos e nas filhas do reprodutor (Pinto, 1989).

A morfologia do escroto e dos testículos de animais Nelore (*Bos taurus indicus*), além do formato globoso, pode apresentar as formas semi-alongada e alongada, possui correlação alta e positiva existente entre a CE e o peso corporal, indicando que a seleção com o objetivo de se

aumentar a CE, promoverá aumento quaseequivalente, no peso corporal constituem ferramenta de seleção de Touros(Neves,2007). Os estudos observaram que somente a circunferência escrotal não é uma medida representativa da produção espermática e, portanto, não demonstra o potencial reprodutivo dos machos. Assim, tem sido usado também para aumentar a precisão da escolha de reprodutores o volume testicular e a forma dos testículos (Fonseca et al., 1997).

### 2.6.2 Classificação Andrológica por Pontos - CAP

A classificação andrológica por pontos (CAP) é uma ferramenta de avaliação reprodutiva de touros análoga à metodologia conhecida como *Breeding Soundness Evaluation* (BSE), proposta por Chenoweth & Ball (1980) para touros *Bos taurus taurus* é um sistema que avalia e pontua os touros, segundo a CE, de acordo com a idade e os aspectos físicos e morfológicos do sêmen, permitindo classificá-los quanto ao seu potencial reprodutivo.

Entre os padrões preconizados para avaliação da capacidade reprodutiva, foram adaptadas as condições brasileiras por Fonseca et al. (1997), conhecido como CAP (Classificação Andrológica por Pontos) e tem como finalidade pontuar os animais de acordo com o perímetro escrotal em função da faixa etária, conjuntamente com os aspectos físicos e morfológicos do sêmen. Por este sistema, podem ser classificados em quatro categorias, em excelentes (de 86 a 100 pontos), muito bons (de 66 a 86 pontos), bons (de 40 a 66 pontos) e questionáveis (menor que 40 pontos) (Fonseca et al., 1997).

Tabela 1- Classificação andrológica por pontos sugerida para touros da subespécie *Bos taurus indicus*, baseada no perímetro escrotal e nas características física e morfológicas do sêmen

Parâmetro	Classificação			
	Excelente	Muito Bom	Bom	Questionável
Vigor	5	4 < 5	3 < 4	< 3
Motilidade progressiva (%)	75	60 - 75	30 < 60	< 30
Pontos outorgados	21 - 25	16 < 21	10 < 16	< 10
Morfologia espermática				
Defeitos maiores (%)	5	> 5 - 10	> 10 - 20	> 20
Defeitos totais (%)	10	10 - 15	> 15 - 30	> 30
Pontos outorgados	30 - 35	25 < 30	15 < 25	< 15
Perímetro escrotal (cm)				
Idade em meses				
07 a 12	21,0	19,5 < 21,0	17,5 < 19,5	< 17,5
12 a 18	26,0	24,0 < 26,0	21,5 < 24,0	< 21,5
18 a 24	31,5	28,5 < 31,5	26,0 < 28,5	< 26,0
24 a 36	35,0	32,0 < 35,0	29,0 < 32,0	< 29,0
36 a 48	37,0	33,5 < 37,0	30,5 < 33,5	< 30,5
> 48	39,0	36,0 < 39,0	33,0 < 36,0	< 33,0
Pontos outorgados	35 - 40	25 < 35	15 < 25	
Total de ponto do reprodutor	86 - 100	66 < 86	40 < 66	< 40

Fonte: Fonseca et al. (1997)

Vale Filho (1997) enfatiza, em relação ao CAP, que esse sistema de avaliação, por sua facilidade e praticidade de programação, pode ser utilizado numa criação de bovinos para corte.

Atualmente, o CBRA (1998) preconiza a utilização da tabela de pontuação, desenvolvida por Fonseca, Santos e Malinski (1997) para classificação de touros zebuínos. A classificação andrológica por pontos pode ser utilizada de forma complementar ao exame andrológico, auxiliando na avaliação do potencial reprodutivo dos touros. (Lopes et al, 2013)

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi aprovado pela CEUA- Comissão de Ética no Uso de Animais, protocolado sob o número 002/2017 na FACISA –Faculdade de Ciências da Saúde de Unaí.

O trabalho foi desenvolvido na Fazenda Santa Paula, município de Arinos, noroeste do estado de Minas Gerais, tendo como coordenadas geográficas 16°35'S de latitude e 46°47'W de longitude, situada em área de Cerrado e altitude de 504m. O clima é classificado como Aw de acordo com a Köppen e Geiger. A temperatura média é 23.5°C e média anual de pluviosidade é 1275 mm.

O sistema de manejo do gado de corte é extensivo e o rebanho foi mantido em pastagens de *Brachiaria decumbens* cultivar Basilisk e *Brachiaria brizantha* cultivar Marandu, recebendo suplementação mineral *ad libitum* e cuidados sanitários adequados, seguindo o calendário zoonitário, com vacinações e controle de endo e ectoparasitas.

Foram utilizados 82 touros *Bos indicus*, com idade entre 36 e 72 meses, sendo 40 animais da raça Tabapuã e 42 animais da raça Nelore. Todos os animais, estavam saudáveis e com bons escores de condição corporal, sendo para este experimento, resguardado um período de 60 dias de repouso sexual, após saírem da estação de monta de janeiro à maio de 2017. O trabalho de coleta de dados e manejo dos animais ocorreu nos dias 02, 03 e 04 de agosto, sendo utilizadas as instalações de rotina da fazenda sem nenhuma alteração ou adaptação, iniciando-se às 08:00h da manhã e encerrando as atividades às 17:00h.

Os animais foram manejados, seguindo recomendações de gerar o mínimo estresse possível, sendo apenas fechados no curral os animais que seriam trabalhados no período, manhã ou tarde, para evitar desgastes desnecessários. Ao serem contidos no brete, os animais foram identificados pelas numerações já existentes, e os procedimentos para coleta dos dados foram iniciados, sendo que a ordem de entrada dos animais se deu de maneira aleatória.

### **3.1 Coleta de amostra para dosagem de Testosterona**

O primeiro dia foi exclusivamente para coleta de sangue para dosagem de testosterona, onde todos os 82 animais foram coletados entre 07:00h e 10:00h da manhã, e novamente todos animais coletados no período da tarde entre 14:00 e 17:00, com a intenção de se identificar os níveis de testosterona nestes dois momentos.

A coleta da amostra sanguínea se deu por punção da veia caudal utilizando-se o sistema de coleta a vácuo, em tubos de vidro de cinco mililitros, sem anticoagulante.

Imediatamente após a coleta, a amostra de sangue foi colocada em banho-maria a 4°C por aproximadamente, 30 minutos, sendo posteriormente centrifugada a 300g por 20 minutos. O plasma sanguíneo, obtido após a centrifugação, foi transferido para tubos criogênicos esterilizados, devidamente identificados, e colocados sob refrigeração à -20°C (Valle e Dode, 1991), para posterior armazenamento em nitrogênio líquido (-196°C), até o momento da análise.

No universo dos 82 touros, foi realizada uma triagem através de exame clínico, hemograma, dosagens de proteína plasmática, fibrinogênio, glicemia e corpos cetônicos (a serem descritas a seguir), com a finalidade de se excluir da amostra, qualquer animal que estivesse com qualquer parâmetro alterado, visto que influenciam diretamente nos níveis séricos de testosterona. Reduzindo assim, o número de animais avaliados para testosterona para 42 animais, sendo 20 da raça Tabapuã e 22 da raça Nelore.

### **3.2 Coleta de amostra para dosagem de Cortisol**

A coleta de amostras para cortisol ocorreu nos outros dois dias de trabalho, onde cada animal foi submetido à outras mensurações e também à coleta de sêmen por eletro-ejaculação (EEJ) tanto no modo manual quanto no modo automático do equipamento, a ser descrito nos procedimentos para exame andrológico.

Para a coleta de amostras (sangue) para dosagem de cortisol, a metodologia seguida para identificar o efeito da coleta EEJ nos animais foi: a primeira amostra foi colhida imediatamente após a contenção do animal, e a segunda amostra, foi colhida em média de 2

minutos após a EEJ, para dar tempo necessário à circulação do cortisol no organismo, e poder ser detectada sua possível alteração após o manejo dos animais.

A coleta e processamento da amostra de cortisol seguiu o procedimento similar ao da coleta de amostras para testosterona.

### **3.3 Análises de Testosterona e Cortisol**

As amostras devidamente identificadas e conservadas foram analisadas no Laboratório de Nutrição Animal do CENA – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, da Universidade de São Paulo em Piracicaba-SP.

As dosagens quantitativas das concentrações séricas de testosterona e cortisol foram realizadas por radioimunoensaio de fase sólida pelo método direto. As análises das concentrações séricas de testosterona e cortisol foram realizadas utilizando-se kits comerciais *IMMUNOTECH SAS® – Marseille, France. (2017)*.

### **3.4 Parâmetros Fisiológicos**

Quanto aos parâmetros clínicos, foram avaliados a frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura retal, nos dois momentos da coleta de amostra de cortisol, para que estas informações possam demonstrar se a fisiologia básica do animal se alterou.

### **3.5 Parâmetros Metabólicos e Hematológicos**

Foram dosados os níveis séricos de glicemia dos animais, sendo que para a dosagem de glicose, se utilizou o aparelho Contour™ TS do Laboratório BAYER, onde se fazia leituras automaticamente conforme procedimento estabelecido pelo fabricante. As análises de glicose foram realizadas em dois momentos, a primeiro, logo após a contenção do

animal, e a segundo, 1 minuto após a EEJ, com a finalidade de se obter o perfil sérico de glicose após o manuseio dos animais.

Foi também mensurado o nível sérico de corpos cetônicos, pela leitura automática das dosagens de beta-hidroxibutirato, utilizando-se o aparelho Ketovet<sup>®</sup> TD-4235 do fabricante TaiDoc Technology Corporation, seguindo os procedimentos recomendados no manual do aparelho.

Realizou-se também a dosagem de proteína total e fibrinogênio dos animais, através de amostra sanguínea obtida após a contenção, onde a proteína plasmática foi obtida através da centrifugação do sangue a 1500 G, para a obtenção do plasma, e então uma gota foi colocada em refratômetro e determinada a densidade deste plasma, correlacionando-se assim com os níveis séricos de albumina. Para a dosagem do fibrinogênio, foi deixada a mesma amostra em banho maria por 20min, e realizada novamente a leitura em refratômetro, obtendo-se assim os valores de fibrinogênio. Para análise hematológica, realizou-se esfregaços sanguíneos para posterior realização de hemograma.

### **3.6 Biometria**

Medidas zootécnicas de peso, idade, escore de condição corporal, altura de cernelha, comprimento e perímetro torácico, foram obtidas utilizando-se fita métrica, balança e avaliação visual da condição corporal. Os dados foram tabulados em planilhas para posterior análise.

Para a biometria testicular utilizou-se um paquímetro digital para mensurar a espessura da pele dobrada e o diâmetro de cada testículo (direito e esquerdo) com as medidas tomadas na altura média. Também se mediu a circunferência escrotal e a altura longitudinal de cada testículo, para se obter o volume testicular de cada animal, seguindo-se a metodologia usada por Fields et al. (1979) e Unanian et al. (2000), em que  $VOL = 2 [(r^2) \times \pi \times h]$ , em que  $r$ =raio calculado a partir da largura (LARG/2),  $h$  = comprimento ou altura, e  $\pi$ (Pi) = 3,14. O volume foi expresso em  $cm^3$  e representou os dois testículos.

### 3.7 Avaliação Andrológica

Quanto às avaliações andrológicas dos animais, estas seguiram as recomendações do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (1998), e os animais serão submetidos à Classificação Andrológica por Pontos (CAP), de acordo com Vale Filho (1989). Os resultados da CAP qualificaram os animais em excelentes, muito bons, bons e questionáveis. Estes dados foram posteriormente correlacionados com os níveis de cortisol e testosterona dos animais.

O método de colheita do ejaculado também foi avaliado do ponto de vista do bem-estar animal, sendo os animais aleatoriamente divididos em dois grupos, um grupo coletado com o eletroejaculador Neovet, modelo Autojac no modo automático seguindo a curva de estimulação gradativa e já programada de fábrica, e o outro grupo, foi coletado com o mesmo equipamento, contudo no modo manual, onde a frequência, tempo de estimulação e amplitude da onda foram realizados pelo médico veterinário. As avaliações do estresse foram correlacionadas com os níveis séricos de cortisol, antes da coleta, com o animal recém contido e após a eletroejaculação, conforme já descrito.

### 3.8 Análise Estatística

O delineamento experimental foi o DIC (Delineamento Inteiramente Casualizado), onde para dados de biometria e fertilidade utilizou-se a estatística descritiva seguida pelo teste de normalidade D' Agostino-Pearson omnibus, seguido do teste t não pareado e Mann Whitney para comparação entre dois grupos no programa GraphPadPrism® 6. Os dados estão expressos em média  $\pm$  desvio padrão da média, e  $P \leq 0.05$  considerado significativo. Para as correlações, foram usadas as correlações simples de Pearson. Para dados hormonais e fertilidade, utilizou-se correlações entre as variáveis e teste de Tukey com  $P \leq 0.05$  de significância através do programa ASSISTAT.



## 4

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

## 4.1 Biometria entre raças

Nas avaliações biométricas, Tabela 2, estão demonstradas as médias por raça e faixa etária, para todos os 82 touros avaliados. Para perímetro torácico (P.T.), não ocorreu diferenças entre as raças na mesma faixa etária, contudo ocorreu diferença significativa entre medidas nas faixas etárias dentro das raças, tendo alta correlação entre idade e perímetro torácico  $r^2 = 0,9032$  para a raça Tabapuã e  $r^2 = 0,9899$  para a raça Nelore. O desenvolvimento torácico em bovinos machos é influenciado diretamente pela idade que o animal possui, e a raça Nelore apresentou

Tabela 2 - Médias de perímetro torácico (P.T.), Perímetro escrotal (C.E.), altura testicular (A.T.), largura testicular (L.T.), espessura da pele dobrada (E.P.D) e volume testicular (V.T.)

Idade meses	P. T. cm	P.E. cm	A.T. cm	L. T. mm	E.P.D. mm	V. T. cm <sup>3</sup>
Nelore (n=42)						
36 (n=19)	179,68±7,29 <sup>a</sup>	29,68±2,09 <sup>a</sup>	14,36±1,67 <sup>a</sup>	62,91±6,38 <sup>a</sup>	15,97±2,51 <sup>a</sup>	432,76±118,38 <sup>a</sup>
48 (n=15)	190,66±7,17 <sup>b</sup>	30,86±1,88 <sup>a</sup>	14,21±1,37 <sup>a</sup>	62,38±6,49 <sup>a</sup>	18,35±3,27 <sup>b</sup>	464,16±110,75 <sup>a</sup>
60 (n=8)	198,37±5,37 <sup>c</sup>	34,37±2,97 <sup>b</sup>	15,5±2,07 <sup>a</sup>	68,01±4,72 <sup>b</sup>	20,86±3,04 <sup>c</sup>	579,34±119,91 <sup>b</sup>
Média	187,16±10,1 <sup>d</sup>	31,11±2,71	14,52±1,68	64,91±7,68	17,75±3,39	460,80±133,05
Tabapuã (n=40)						
36 (n=11)	177,56±9,31 <sup>a</sup>	29,27±1,79 <sup>a</sup>	14,88±0,87 <sup>a</sup>	58,03±4,03 <sup>c</sup>	17,18±2,93 <sup>a</sup>	350,36±54,20 <sup>c</sup>
48 (n=21)	195,04±9,05 <sup>b</sup>	31,92±2,55 <sup>a</sup>	15,23±1,81 <sup>a</sup>	65,50±4,95 <sup>a</sup>	19,14±3,06 <sup>b</sup>	523,82±153,30 <sup>b</sup>
60 (n=8)	199,87±8,11 <sup>c</sup>	34,25±2,43 <sup>b</sup>	15,51±1,07 <sup>a</sup>	71,22±4,14 <sup>b</sup>	20,74±2,83 <sup>c</sup>	659,01±86,69 <sup>d</sup>
Média	191,05±12,34	31,63±2,87	14,91±1,88	64,75±6,44	18,92±3,12	504,27±157,33

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Para P.E., não ocorreu diferenças entre as faixas etárias de 36 e 48 meses, porém no grupo de 60 meses observou-se diferença significativa nas duas raças avaliadas, demonstrando um desenvolvimento similar entre elas, com correlação  $r^2 = 0,9785$  para Tabapuã,  $r^2 = 0,9243$  na raça Nelore, para as médias por faixa etária.

Para altura dos testículos, não foram encontradas diferenças significativas entre as faixas etárias ou entre as raças, contudo as médias para a raça nelore de 14,52cm foram superiores as de Dias et al.(2007) que obteve 10,7cm. Lopes et al (2013) obteve em touros Tabapuã altura de 13,2cm e largura de 6,5cm.

Para largura dos testículos, observa-se na raça Nelore, na faixa de 36 meses um desenvolvimento testicular mais precoce que na raça Tabapuã, porém não ocorreu variação significativa para a faixa de 48 meses, enquanto no Tabapuã ocorreu aumento significativo. No grupo de 60 meses, ocorreu diferenças entre as faixas etárias, mas não entre as raças, sendo que na Tabapuã, a largura testicular demonstrou ter um desenvolvimento maior.

Na análise de volume testicular, a raça nelore apresentou diferença significativa somente no grupo de 60 meses, já na raça Tabapuã, encontrou-se diferenças significativas tanto as faixas etárias, quanto na comparação com a raça nelore, apresentando um volume testicular menor no grupo de 36 meses, e um desenvolvimento maior nos grupos de 48 e 60 meses.

Dias et al.(2007), trabalhando com animais de 24 meses, encontrou médias de CE de 28,4cm, altura testicular de 10,0 cm, largura de 5,6cm e volume de  $500,6\text{cm}^3$ , e para animais de 36 meses, 31,3, 10,7cm, 6,4cm e  $711,2\text{cm}^3$  respectivamente. Neves et al (2007), encontrou para 36-48 meses 38,0cm e para 48-70 meses 39,2 cm na raça Nelore. Moura (2002), no Ceará, encontrou 29,7 aos 30 meses. Ferraz et al (2011), obteve em animais considerados aptos à reprodução, médias de 31,34cm, 9,99cm, 5,46cm,  $261,56\text{cm}^3$ , para circunferência escrotal, altura, largura e volume testicular respectivamente, sendo o volume testicular, muito inferior ao que se encontrou neste trabalho. Silva et al (2002), obteve circunferência escrotal de 33,67, 36,33 e 37,36cm para 36, 42 e acima de 48 meses respectivamente.

Nas medidas de espessura de pele, ocorreram diferenças significativas entre as faixas etárias, porém não ocorreu variação entre raças nos grupos de mesma idade. Medidas de 27,2mm, 24,4mm e 23,7mm para 36, 48 e 60 meses, foram obtidas por Machado et al (2012), em animais abatidos. Esses valores podem sofrer influência do operador do paquímetro, por exercer pressões diferentes na pele durante as mensurações, principalmente com animais vivos.

As medidas biométricas são de fácil obtenção, contudo são altamente influenciadas pela idade do animal e também as condições nutricionais e de meio a que são submetidos. A suplementação alimentar interfere no desempenho reprodutivo, com efeitos positivos sobre peso corporal, circunferência escrotal, características físicas do sêmen e CAP de touros jovens Tabapuã (Corrêa et al., 2006). Sendo assim, variações no desenvolvimento podem ser percebidas em diversos trabalhos de regiões distintas. Além do caráter nutricional, há de se considerar o fator genético dos animais envolvidos, sendo que circunferência testicular apresenta herdabilidade de 0,57 e 0,44, conforme encontrado por Cyrillo et al. (2001) e Siqueira et al (2013), que em ampla revisão de literatura, encontrou herdabilidades variando de 0,24 a 0,81, e alta repetibilidade, sendo uma variável importante a ser considerada na comparação entre animais.

#### **4.2 Espermograma**

A Tabela 3 expressa os resultados das análises espermáticas de todos 82 touros na primeira fase do trabalho, bem como a classificação andrológica por pontos segundo Fonseca (1997). A raça nelore apresentou parâmetros espermáticos melhores tanto na média geral quanto nas faixas etárias estudadas, somente tendo valores ligeiramente diminuídos no grupo de animais de 60 meses.

Na raça Tabapuã a motilidade média geral foi em torno de 10% menor que da raça nelore, sendo o grupo de 48 meses o que apresentou melhores dados. Correa et al (2006) e Rossi (2015) encontraram valores para motilidade na raça tabapuã de 54,24% e 72,6% respectivamente, valores que se assemelham aos encontrados neste trabalho. Silva (2002) obteve para animais de 36 meses motilidade de 60,7% e para animais com mais de 48 meses a motilidade foi de 72,8% na raça nelore.

Para turbilhonamento, vigor e concentração, a raça Nelore também foi superior à raça Tabapuã, e não se obteve diferença significativa entre as faixas etárias nas duas raças. Em avaliação das duas raças Rossi (2015) encontrou para turbilhonamento, vigor e concentração respectivamente 2,7, 3,92 e  $840 \times 10^6$  spz/ml para Tabapuã e 2,6, 3,87 e  $824 \times 10^6$  spz/ml para Nelore. Ferraz (2011) obteve 3,91, 4,03 e  $1862 \times 10^6$  spz/ml para touros de 36 meses considerados aptos à reprodução e 2,5, 2,7 e  $1200 \times 10^6$  spz/ml, para animais considerados inaptos para as características avaliadas. Algo que se deve discutir é que as análises com sêmen fresco são passíveis de erros avaliativos, uma vez que as notas dadas para estas características são subjetivas, e requerem certa experiência para as avaliações.

Tabela 3 - Médias de motilidade, vigor, turbilhonamento, concentração, defeitos maiores, defeitos menores e defeitos totais em função da raça e das idades

<b>Idade</b>	<b>Motilidade</b>	<b>Vigor</b>	<b>Turb.</b>	<b>Concentração</b>	<b>Defeitos Maiores</b>	<b>Defeitos menores</b>	<b>Defeitos Totais</b>	<b>CAP</b>
<b>meses</b>	<b>%</b>	<b>(1-5)</b>	<b>(1-5)</b>	<b>sptz/ml x 10<sup>3</sup></b>	<b>%</b>	<b>%</b>	<b>%</b>	<b>0-100</b>
Nelore (42)								
Média raça	80,51±12,87a	3,73±1,28a	3,14±1,58a	1127,73±747,4a	6,42±2,28a	9,48±2,67a	16,38±3,91a	64,30±11,85a
36 (19)	81,31±11,28a	3,68±1,29a	3,23±1,59a	1049,36±657,5a	6,21±2,41a	12,42±2,56b	18,63±3,86a	68,47±8,99a
48 (15)	81,00±14,67a	3,86±1,59a	3,53±1,64a	1440,73±916,67a	6,46±2,26a	8,53±2,97a	15,37±4,69a	58,73±13,59a
60 (8)	75,02±14,39a	3,62±1,30a	2,75±1,48ab	727,22±263,54ab	6,87±2,23a	7,51±2,07a	14,37±2,44a	64,82±11,49a
Tabapuã (40)								
Média raça	71,12±14,81a	2,92±1,27b	2,27±1,41b	873,67±540,01ab	7,37±3,28a	10,85±3,34ab	18,22±5,91ab	58,75±12,13a
36 (11)	68,63±13,83ab	2,63±1,36b	2,09±1,38bc	823,81±706,45ab	8,36±4,97a	10,09±3,91ab	18,45±8,24ab	57,09±11,06a
48 (21)	76,66±11,33a	3,28±1,10ab	2,57±1,47b	952,19±535,53ab	6,47±2,16a	10,33±2,35ab	16,80±4,08a	59,58±11,59a
60 (8)	60,21±19,27bc	2,37±1,51b	1,75±1,39c	736,12±299,94b	8,37±2,83a	13,25±4,23b	21,62±5,97b	59,25±15,93a

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Para defeitos maiores não se verificou diferença entre as raças nem entre as faixas etárias, e defeitos menores e defeitos totais basicamente observou-se diferença entre raças, sendo a Tabapuã possuidora de maior quantidade de patologias espermáticas, contudo, ainda dentro dos limites estabelecidos pelo CBRA (1998) e Vale Filho (1989) que afirmou que, na avaliação do sêmen, admite-se até 15% de defeitos maiores e até 25% de defeitos menores, não podendo a soma total dos dois tipos de defeitos, ultrapassar 30%.

Na avaliação da CAP, apesar da raça Nelore apresentar valores mais altos, não apresentou diferença significativa com a raça Tabapuã. Para média da raça e idades de 36, 48 e 60 meses os touros Nelores apresentaram CAP de 64, 68, 58 e 64, respectivamente e segundo a classificação proposta por Fonseca (1997) apenas grupo com 36 meses estariam dentro da classificação como BOM (66<86 pontos) estando os demais touros na classificação como REGULAR (40<66 pontos). Já na avaliação da CAP para a raça Tabapuã, verificou-se que na média da raça e na média por idade, a classificação foi REGULAR (40<66 pontos) para todos os grupos. Devemos entender que esta avaliação se dá pela média de grupos de mesma idade, havendo em todos os grupos animais que se diferenciaram tanto positivamente como negativamente.

Ferraz (2011) encontrou dados para animais aptos e inaptos de 79,82 e 50,51 pontos respectivamente. Correa et al (2006) obteve CAP média de 69,91 pontos para animais à pasto e de 75,86 pontos para animais mantidos em regime de confinamento, demonstrando a influencia do manejo nutricional sobre as condições reprodutivas do rebanho. Meneses (2015) encontrou para animais de campo 75,3, 79 e 89 pontos para grupos etários diferentes na raça Nelore e 61, 64 e 63 pontos para grupos etários diferentes na raça Caracu.

Segundo Vale Filho (2001), touros que com CAP maior tendem a ser reprodutivamente mais eficientes uma vez que possuem parâmetros seminais superiores.

Confrontando os dados da raça Tabapuã com os trabalhos de Correa et al (2006) e Rossi (2015), verificamos que há realmente uma ligeira diminuição de todos os parâmetros avaliados nas idades estudadas. Possivelmente a raça Tabapuã, por ser uma raça relativamente nova ainda não sofreu a pressão de seleção reprodutiva que a raça Nelore vem passando no último século, tendo ocupado todo o território nacional e demonstrando capacidade adaptativa.

Em levantamento de exames andrológicos, no período compreendido entre 1990 a 2010 no Paraná, Rossi (2015), verificou que O maior percentual de touros inaptos à reprodução foi encontrado na raça Tabapuã comparada à raça Nelore e em animais acima de 73 meses também eram considerados inaptos.

### 4.3 Testosterona

Na Tabela 4, apesar de encontrarmos médias maiores para animais mais velhos independente de raça, não se verificou diferenças significativas entre as médias de testosterona nas faixas etárias. Estas análises ficaram um tanto prejudicadas pelo alto desvio-padrão e coeficiente de variação, encontrados nos grupos, demonstrando uma ampla variação de concentrações de testosterona nos animais para a mesma idade. Este resultado foi similar dos resultados de Sanches (1999), que não encontrou efeito significativo da idade sobre os níveis de testosterona em touros Nelore.

Tabela 4 - Níveis médios de testosterona, desvio-padrão, coeficiente de variação e valores mínimos e máximos em relação a faixas etárias independente da raça.

Meses	N	T1 (manhã)		T 2 (tarde)		T média		Valores (ng/ml)	
		ng/ml	CV	ng/ml	CV	ng/ml	CV	Min	Máx
36	12	1,04+1,93a	185,57%	1,5+2,19a	146%	1,27+1,34a	105,51	0,14	7,56
48	18	1,65+2,91a	176,36%	2,55+4,12a	161,56%	2,11+3,36a	159,24%	0,13	12,1
60	12	2,13+3,65a	171,36%	2,61 + 3,78a	144,82%	2,37+3,70a	156,11%	0,26	12,64

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

CV-Coeficiente de Variação, T1 – amostra coletada pela manhã, T 2 amostra coletada à tarde, T média – média aritmética entre T1 e T2.

Quando se analisa os níveis médios de testosterona em função da raça (Tabela 5), também não houve diferença significativa, e observa-se que a raça Tabapuã, demonstrou

valores nominais médios, ligeiramente mais elevados que a raça Nelore. Vale ressaltar os valores mínimos e máximos tanto para idade quanto para raça (tabelas 4 e 5), verificando uma grande amplitude em relação aos níveis séricos de testosterona.

Tabela 5 – Idade média, níveis médios de testosterona (T média),  $\pm$  desvio-padrão, coeficiente de variação (C.V.) e valores mínimos (Min) e máximos (Max) em relação as raças.

Raça	N	Idade meses	T média ng/ml	CV %	Valores (ng/ml)	
					Min	Máx
Nelore	22	49,64 $\pm$ 11,66a	1,52 $\pm$ 2,38a	156,58%	0,13	9,71
Tabapuã	20	46,97 $\pm$ 9,91a	2,53 $\pm$ 3,80a	150,20%	0,14	12,64

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Os dados obtidos não se assemelham as médias relatadas por diversos autores com concentrações médias de testosterona na fase adulta, de 1,24 ng/ml aos 24 meses (Santos et al.,1997); 3,1 ng/ml aos 27 meses e 4,0 ng/ml aos 39 meses de idade (Barbosa et al.,1992); e 3,17 ng/ml (Sanches et al.,1998), Oba (1985), verificou uma média de 0,45 ng/ml para menores de 8 meses, 1,23 ng/ml para 8 a 16 meses, 1,35 ng/ml para 16 a 24 meses, 2,50 ng/ml para 24 a 36 meses e 8,36 ng/ml para maiores de 36 meses de idades, e concentrações de testosterona foram maiores nos touros Nelore (3,1 e 4,1 ng/mL) em relação aos touros Canchim (1,2 e 2,1 ng/mL), aos 27 e 39 meses de idade, respectivamente (Barbosa et al., 1987). Unanian et al(2000) encontrou em estudo de animais nelores púberes aos 10 meses de idade uma concentração de testosterona de 1,57ng/ml. Em touros Brahman, encontrou-se médias de 3,9 ng/mL de testosterona (Fields et al., 1982)

Lezier et al (2003), encontraram valores muito acima da média para concentração de testosterona no plasma de touros Nelore de 168,04  $\pm$  95,70 ng/ml, CV = 56,95%, com variação entre 26,10 a 293,72 ng/ml, dos 12 aos 24 meses.

Mais recentemente, Chacur et al. (2012), determinaram para primavera, verão outono e inverno, 879,47ng/dl, 901,09 ng/dl, 584,02 ng/dl e 648,15 ng/dl para a raça Nelore e 430,40 ng/dl, 234,71 ng/dl, 420,31 ng/dl e 329,14 ng/dl para a raça Simental, demonstrando haver ligeira variação, contudo não encontraram diferença significativa da influência sazonal sobre os níveis de testosterona. Na raça Guzerá, a concentração média de testosterona foi de 1,36 ng/mL, com influência do horário de coleta nos níveis circulantes (Dias et al., 2014).

Sanches et al. (1998), mencionam a instabilidade dos níveis de testosterona sob fatores nutricionais, climáticos e estressantes e nas condições tropicais, a média mensal mais baixa deste hormônio ter sido encontrada no mês de outubro, em touros zebuínos.

Verificou-se que no mês da coleta de dados deste experimento, agosto de 2017, as condições de pastagens que os animais estavam submetidos não eram as mais favoráveis, apesar de se ter verificado escores de condição corporal ainda adequados. Porém, levando-se em consideração possíveis interferências, os dados obtidos estão alinhados com a literatura consultada. Byrne et al (2017) observaram a alta correlação entre os níveis nutricionais com a testosterona em animais jovens, podendo então, a época e condição nutricional dos animais terem influenciado nos valores obtidos.

### 4.3 Horário de colheita testosterona

Tabela 6–Concentrações plasmáticas de testosterona em função dos períodos de colheita por raça

	T 1	CV	T 2	CV	T média	CV
	ng/ml	%	ng/ml	%	ng/ml	%
Nelore	1,21±2,23a	184	1,82±2,62a	144	1,52±2,37	156
Tabapuã	2,04±3,46a	170	3,03±4,39a	145	2,53±3,79	150

Médias seguidas da mesma letra na coluna e linha não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV-Coeficiente de Variação, T1 – amostra coletada pela manhã, T 2 amostra coletada à tarde, T média – média aritmética entre T1 e T2.

Neste trabalho não verificamos diferença significativa entres os horários de coleta (Tabela 6), os desvios-padrão e coeficientes de variação também foram elevados, demonstrando uma ampla variação individual entre os animais. Apesar de não se encontrar diferença estatística, as médias em T2, período da tarde, foram superiores as médias em T1, período da manhã. Talvez avaliando uma população maior, e com maior número de observações ao longo do dia poderia ser encontrada diferenças entre as coletas.

Amorin et al (2015), encontraram em touros Nelores para as 08:30h, 12:30h, 16:30h 20:30h, 00:30h e 04:30h, as seguintes dosagens em ng/ml, 4,94, 4,09, 5,57, 2,99, 4,29 e 3,30 para touros jovens e 7,15, 7,85, 7,15, 4,76, 5,93 e 5,41 para touros adultos. Dias et al. (2014), observaram diferenças entre horários de coleta, com concentração máxima de testosteronanos níveis séricos, às sete horas (4,42ng/mL) e mínima às 19 horas (0,36ng/mL), com estabilização na concentração sérica basal ocorrendo a partir das 13 horas (0,55 ng/mL).

Santos et al.(2000) encontraram diferença da concentração sérica de testosterona dos animais, sendo que os horários de coleta de 16h30 e 00h30h apresentaram maior concentração de testosterona, em relação às 4h30 e 12h30, e não diferiram dos demais horários de coleta, porém não se caracterizaram como picos.

Vários trabalhos demonstram variação dos picos durante o dia, associados aos picos de LH. Katongole et al. (1971), estudando as relações entre LH e testosterona, em touros *Bos taurus taurus*, observaram padrão cíclico de liberação de LH, com 5 a 10 picos durante as 24 horas, em que cada pico de LH estava associado a um de testosterona, já Barbosa (1987) verificaram em média, pico nas concentrações de testosterona em touros Nelore as 14:00h e pico na raça Canchin as 20:00h.

Verifica-se a necessidade de melhor entender as flutuações das concentrações de testosterona ao longo do dia, a fim de se estabelecer e padronizar momentos adequados de coleta para dosagens que sejam representativas do quadro endócrino de touros zebuínos tanto do ponto de vista clínico quanto experimental.

#### 4.4 Correlações entre Testosterona, Parâmetros Biométricos e Fertilidade

Na Tabela 7 encontra-se as correlações entre de testosterona, perímetro escrotal e volume testicular com parâmetros de qualidade espermática, perímetro torácico e CAP. Nas duas raças, as correlações entre perímetro escrotal e testosterona foram de  $r=0,20$ , demonstrando uma fraca, porém similar interação

Tabela 7 - Correlações de Pearson para Testosterona Média, Perímetro Escrotal e Volume Testicular com parâmetros reprodutivos

	Testosterona Média		Perímetro Escrotal		Volume Testicular	
	Nelore	Tabapuã	Nelore	Tabapuã	Nelore	Tabapuã
Perímetro Escrotal	0,2085	0,2040	-	-	-	-
Volume Testicular	0,0309	0,0592	0,1371	0,7807	-	-
Conc. Espermática	0,0565	0,0845	0,0646	0,2039	0,0035	0,0441
Motilidade	0,1195	0,1154	0,0015	0,0015	0,0740	0,0132
Vigor	0,1270	0,1204	0,0045	0,0264	0,0050	0,0580
Turbilhonamento	0,0847	0,0574	0,4540	0,0005	0,0102	0,0088
Perímetro Torácico	0,0847	0,0574	0,2408	0,1697	0,0191	0,1281
CAP	0,2607	0,2181	0,1327	0,2854	0,0979	0,2778



Menezes et al (2014), encontraram em animais de 17 e 29 meses, correlação moderada entre testosterona e perímetro escrotal  $r=0,48$  e  $0,60$  respectivamente. Chacur et al. (2007) não encontraram correlação significativa entre testosterona e perímetro escrotal ( $P>0,05$ ). Barbosa (1987) obteve correlação desprezível ( $r=-0,09$ ) para raça Nelore e moderada correlação ( $r=0,56$ ) para a raça Canchim. Para Dias et al. (2014) a regressão da concentração sérica de testosterona e a circunferência escrotal (CE) também apresentou efeito linear indicando que, para cada centímetro a mais na CE nos touros Guzerá, ocorreu aumento de  $0,2319$  ng/ml na concentração de testosterona.

Na análise do volume testicular com a testosterona, não se obteve correlação neste estudo, assim como Barbosa (1987), Silva (1999) e Chacur et al. (2007), porém Miyasaki (2014), em animais Brahman encontrou fraca correlação de testosterona x volume testicular  $r=0,22$ .

A associação entre um testículo com maior perímetro e volume com as concentrações plasmáticas de testosterona, teria certo sentido presumindo que quanto maior o testículo, mais células de Leydig estão presentes, e conseqüentemente maior produção de testosterona. Contudo a produção de testosterona esta regulada pela liberação pulsátil de LH ao longo do dia, regulado por sua vez pelo GnRH (Hafez, 2003), verificado por Menezes et al (2014), após administrações de GnRH. Sendo assim, os níveis séricos de testosterona não dependem exclusivamente do tamanho testicular, mas da orquestração adequada do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal e dos fatores influenciadores destes, como condições estressoras, exemplo má nutrição, ou estimuladoras como estação reprodutiva.

Encontrou-se forte correlação entre perímetro escrotal e volume testicular na raça Tabapuã e fraca correlação na raça Nelore. Provavelmente devido a morfologia testicular dos touros Nelore serem mais alongados (Neves, 2007) que os testículos na raça Tabapuã que por sua vez, difeririam significativamente no volume testicular no presente trabalho ( Tabela 2).

Quando correlacionados os parâmetros concentração espermática, motilidade, vigor e turbilhonamento, com concentração sérica de testosterona, motilidade e vigor, apresentaram valores muito parecidos nas duas raças com aproximadamente  $r=0,12$ , contudo muito baixas. Também não se observou correlações entre as características seminais com perímetro escrotal e volume testicular.

Chacur et al, (2012) destacam que para os touros da raça Nelore, quanto maior a concentração de testosterona, uma redução na qualidade do sêmen foi observada. Para os animais da raça Simental, quanto maior a concentração de testosterona, melhor foi a qualidade

do sêmen. Barbosa (1987), também não encontrou correlação significativa entre testosterona e concentração espermática motilidade, vigor, turbilhonamento.

Dias et al. (2014) verificaram correlação favorável e de alta magnitude entre a concentração espermática e a concentração sérica de testosterona de 0,71 ( $p=0,0003$ ) em touros Guzerá.

Não foi observado para as duas raças deste trabalho, correlações entre motilidade e perímetro ou volume testicular, diferentemente de Silva et al. (2002) que encontraram correlação entre motilidade e perímetro escrotal aos 18 meses de  $r=0,35$ , e Moura et al. (2002), com valor de correlação  $r = 0,39$ .

As correlações que envolvem perímetro toracico foram desprezíveis neste experimento. Miyasaki (2014), em animais Brahman, encontrou entre testosterona x perímetro toracico  $r= 0,38$ . Sabe-se que a Testosterona é um hormônio anabólico e responsável pelas características sexuais secundárias masculinas, como desenvolvimento da parte toracica do corpo nos machos (Hafez, 2003). Contudo, a ausência de correlação neste experimento pode ser explicada, pelo fato de todos os animais já estarem na fase adulta, e plenamente desenvolvidos.

Na Tabela 8 verifica-se a distribuição dos touros conforme CAP segundo proposto por Fonseca (1997), com as concentrações de testosterona em T1, T2 e Tmédia, onde observamos que dos 42 touros avaliados, apenas 3 (7,1%) atingiram a classificação “Excelente”, com pontuação de 87,33 pontos e com testosterona média de 7,81ng/ml, 12 (28,5%) touros foram classificados como “Muito Bom” e testosterona média de 2,11ng/ml. A grande maioria dos animais, 26 touros (61,9%), foi classificada como “Bom”, com testosterona média de 1,34ng/dl e 1(2,5%) touro obteve a classificação “questionável” com pontuação de 35 dentro dos critérios da CAP. Observou-se diferenças significativas entre o grupo Excelente e os demais, nas concentrações T1, T2 e T média, e diferenças significativas entre todos os grupos na CAP.

Tabela 8 - Classificação Andrológica por Pontos segundo Fonseca (1997), Testosterona nos momentos T1 (manhã) e T2 (à tarde), Testosterona média 42 touros

CAP	Pontuação	N	T 1 ng/ml	T 2 ng/ml	Testosterona Média (T1+T2)/2
Excelente	86 – 100	3	7,33±6,32a	8,29±6,05a	7,81±6,18a
Muito bom	66 < 86	12	1,56±2,30b	2,67±2,45b	2,11±2,33b
Bom	40 < 66	26	1,01±1,90b	1,66±3,25b	1,34±2,45b
Questionável	< 40	1	0,11	0,45	0,28

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Na Figura 1. observa-se a correlação entre testosterona e Classificação Andrológica por Pontos (CAP), onde obteve-se  $r=0,691$ , demonstrando que a testosterona influencia diretamente na avaliação de fertilidade dos animais. Sendo assim, a CAP pode ser uma medida indireta de predição da testosterona.

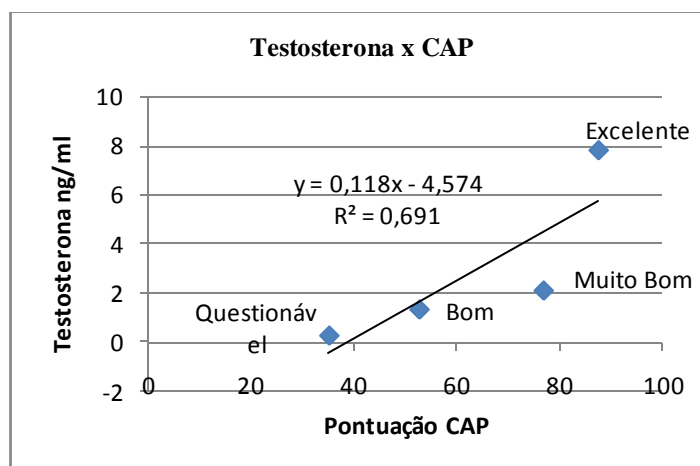


Figura 1 - Correlação Testosterona x CAP, independente de raça.

Tabela 9 - Classificação Andrológica por Pontos, Testosterona e correlação por Raça

	Nelore			Tabapuã		
	n	CAP média 0-100	T Média ng/ml	n	CAP média 0-100	T Média ng/ml
Excelente	1	90,00	9,97	2	86,50	8,35
Muito Bom	6	81,33	1,71	6	72,67	3,87
Bom	15	53,87	0,87	11	50,73	0,95
Questionável	0	0	0	1	35,00	0,28
Correlação		r=0,5529			r = 0,8937	

Verifica-se na Tabela 9, que a raça Nelore apresentou uma correlação CAP x Testosterona moderada, enquanto na raça Tabapuã, observou-se uma forte correlação entre as variáveis,  $r=0,89$ . Levando-se em conta que a CAP é uma composição de perímetro escrotal, motilidade e morfologia espermática, Vale Filho et al. (2001), afirma que esta avaliação constitui um importante índice de confronto entre touros de uma mesma raça ou de comparações entre raças criadas num mesmo ambiente.

Dias et al. (2014) afirma que a associação favorável entre o índice de classificação andrológica (CAP) e os níveis periféricos de testosterona em touros Guzerá (0,46;  $p=0,0260$ ), pode ser explicada pelo fato da CE ser responsável por até 40% na

pontuação máxima dos animais submetidos a este índice tendo a CE alta associação com a testosterona. Contudo, não se observou esta relação nas raças Nelore e Tabapuã, que obtiveram  $r=0,20$  neste trabalho.

Vigor e motilidade progressiva correspondem à 25% da pontuação enquanto características de patologia espermática, correspondem à 35% da pontuação de acordo com a proposta de Fonseca et al. (1997). Sendo assim a CAP uma composição que expressa a capacidade funcional de um touro, implicando em maior capacidade reprodutiva. Anderson (1992 apud Moura, 2009) encontrou correlação positiva entre a concentração de testosterona sérica e a fertilidade de touros, avaliada pela taxa de não retorno das vacas ao estro. Constatou, também, que os animais com maior motilidade espermática apresentaram, em média, maior concentração de testosterona.

Chaves et al (2007), encontraram correlação direta entre CAP, libido e taxa de gestação, enfatizando a eficiência da classificação na funcionalidade dos touros. Freneau et al (2017), determinaram que a CAP apresenta relação positiva com a porcentagem de prenhez em rebanho de várias categorias de fêmeas.

Dias et al. (2014) definem que a ação direta e indireta da testosterona na multiplicação e diferenciação das células germinativas, pode ser a explicação da associação deste hormônio com a qualidade espermática. Pode-se então presumir, que a concentração mais elevada da testosterona agiria influenciando tanto as características de vigor e motilidade, quanto diminuindo as alterações morfológicas nos espermatozoides.

#### **4.5 Avaliação do estresse**

Verifica-se na Tabela 10 os parâmetros fisiológicos relacionados ao estresse citados por Palmer et al (2005). Para frequência cardíaca, tanto na raça Nelore quanto na raça Tabapuã, não se observou diferença significativa entre as medidas antes e após a EEJ, sendo que na raça Nelore, as médias foram ligeiramente superiores as médias da Tabapuã. O mesmo comportamento foi observado nas frequências respiratórias e nas temperaturas retais, onde também não se verificou diferenças significativas.

O que se imaginava obter com estas mensurações era um incremento em todos os parâmetros avaliados, devido ao estresse que os animais foram submetidos, assim como Mosure et al. (1998), que encontraram elevação da frequências de batimentos cardíacos em

touros europeus submetidos à eletroejaculação convencional, quando comparados com animais que sofreram massagem das glândulas acessórias ou eletroejaculação associada à anestesia epidural, porém ao se analisar as médias o que se observa é até uma depleção dos valores médios, contudo sem diferenças significativas.

Tabela 10 - Médias de frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura retal e glicose sérica dos animais, antes e depois da EEJ em função da raça (82 touros)

	F.C. bat/min		F.R. mov/min		T.R. °C		G.S. mg/dl	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
Nelore (42)								
Média	65,66a	60,19a	29,47b	27,76b	38,47c	37,51c	48,35d	51,54d
DP	±12,08	±13,27	±6,97	±6,05	±1,14	±2,34	±10,69	±12,15
CV	18%	22%	24%	22%	3%	6%	22%	24%
Tabapuã (40)								
Média	59,40a	58,05a	27,40b	26,95b	38,06c	37,33c	47,87d	51,05d
DP	±12,26	±9,49	±6,81	±4,77	±1,46	±1,40	±12,57	±14,18
CV	21%	16%	25%	18%	4%	4%	26%	28%

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DP – Desvio Padrão CV-Coefficiente de Variação

Resultados que se assemelham aos de Filho et al. (2008), onde a estimulação elétrica transretal não elevou as frequências de movimentos respiratórios, de batimentos cardíacos e a temperatura transretal em coletas seriadas, porém este grupo de animais apresentou maiores valores médios gerais para as frequências respiratória e cardíaca ao longo do experimento.

Boussena et al (2013) trabalhando com ovinos na Argélia, afirmam que o uso da EEJ induz significativamente as alterações na temperatura retal, frequência cardíaca e em menor grau de frequência respiratória, com diferentes respostas individuais à estimulação elétrica.

Na Tabela 11 os animais foram agrupados em função do modo de estimulação na EEJ, sendo modo automático ou manual. Onde não se verificou diferenças significativas entre os parâmetros avaliados.

Pagliosa (2013) verificou que animais submetidos a anestésias para EEJ, que não induziram diferença significativa para FC quando comparadas com os valores basais, no entanto, aos 20 e 30 min, as FC nos grupos tratados foram significativamente menores que o grupo controle nos mesmos tempos de mensuração.

Observou-se também, (Tabelas 10 e 11) incremento nos níveis séricos de glicose, nas duas raças após a EEJ, contudo não foram estatisticamente diferentes, mas, revela

uma tendência do organismo, em momentos de estresse, disponibilizar glicose sanguínea, provavelmente devido a ação do cortisol (Tabela 12). Não se encontrou na literatura, estudos entre EEJ e níveis séricos de glicose.

Tabela 11 - Médias de frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura retal, glicose sérica dos animais, antes e depois da EEJ em função do método (82tours)

	Frequencia Cardíaca		Frequencia Respiratória		Temperatura Retal		Glicose Sérica	
	bat/min		mov/min		°C		mg/dl	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
Automático (41)								
Média	64,48a	58,17a	29,76b	27,05b	38,28c	37,65c	47,14d	50,93d
DP	±13,93	±12,59	±7,10	±5,36	±1,30	±1,28	±10,42	±12,71
CV (%)	21,6	21,7	23,8	19,8	3,4	3,4	22,1	25
Manual (41)								
Média	60,65a	60,18a	27,1b	27,7b	38,27c	37,19c	49,15d	51,7d
DP	±10,64a	±10,44	±6,56	±5,59	±1,36	±2,44	±12,73	±13,65
CV (%)	17,5	17,4	24,2	20,2	3,5	6,5	25,9	26,4

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DP – Desvio Padrão CV-Coeficiente de Variação

Na Tabela 12, os animais foram avaliados para dosagem de cortisol apenas 42 touros, pré-selecionados por CAP, conforme proposto na metodologia. Neste novo arranjo, permaneceu com as ausências de diferença entre os parâmetros FC, FR, TR, glicose e cortisol antes EEJ, contudo ao se observar o cortisol após EEJ, obteve-se diferença significativa ( $p < 0,05$ ), sendo que o grupo de animais coletados pelo método automático apresentando incremento na concentração sérica de cortisol de  $12,27 \pm 15,15$  enquanto o grupo coletado pelo método manual apresentou média de  $30,35 \pm 23,05$  também significativamente diferentes. Ou seja, o modo manual de coleta, foi mais estressor aos animais do que o modo automático, sendo, assim podemos compreender este fato pelo motivo que o modo automático estabelece uma curva de estimulação suave, enquanto o modo manual depende da sensibilidade e experiência do operador do aparelho, que pode induzir ondas elétricas de estimulação mais agressivas aos animais.

Foi possível estabelecer correlação entre a diferença na glicose e a diferença no cortisol, obtendo-se uma correlação no modo manual de  $r = 0,007$ , enquanto obteve-se uma correlação de  $r = 0,253$ , não demonstrando, pelo menos no momento pós EEJ avaliado, que foi em torno de 2 minutos, relação causa consequência, uma vez que o cortisol é fator hiperglicêmico.

Tabela 12 - Médias de frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura retal, glicose sérica dos animais e cortisol, antes e depois da EEJ em função do método (42tours)

	F C		F R		T R		G S		I G	Cortisol		I C	R <sup>2</sup> G x C
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois		Antes	Depois		
Autom.	63,18a	58,91a	30,18a	28,00a	38,25a	37,53a	49,00a	53,50a	4,50a	20,87a	33,14a	12,27a	0,007
DP	12,54	15,91	7,58	6,05	1,17	1,16	10,50	13,65	7,08	13,26	19,46	15,15	
Manual	59,60a	61,00a	27,20a	29,10a	38,41a	37,58a	49,55a	51,80a	2,25a	26,52a	56,87b	30,35b	0,253
DP	8,72	10,53	5,60	6,14	1,10	1,25	14,43	14,78	10,04	19,69	24,92	23,05	

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. FC – frequência cardíaca, FR – frequência respiratória, TR- temperatura retal GS- Glicose sérica, IG – Incremento Glicose após EEJ. IC – Incremento Cortisol após a EEJ.

Ao se analisar os dados da Tabela 13, verifica-se que a glicose no momento da EEJ e após a estimulação, não apresentou alterações significativas, contudo para as duas raças houve um incremento na média em termos percentuais de 12,1% no modo automático e 16,0% no modo manual para a raça Nelore, e para a raça Tabapuã a variação foi de 11,4% e 12,0 %, no modo automático e manual respectivamente.

Tabela 13–Níveis de glicose e cortisol séricos em função das raças e modos de coleta na EEJ

	Glicose Sérica				Cortisol			
	mg/dl		Diferença	Dif. %	mmol/ml		Diferença	Dif. %
Antes	Depois	Antes			Depois			
Nelore (22)								
Automático	49,52±8,14a	55,53±11,11a	6,01±8,19a	12,1	27,42±15,31a	44,17±18,71a	16,76±13,84a	61,1
Manual	47,33±11,89a	54,91±15,40a	7,58±7,35a	16,0	28,31±14,36a	54,68±22,34a	26,37±30,24a	93,1
Tabapuã (20)								
Automático	47,31±13,65a	52,70±17,09a	5,39±5,06a	11,4	24,37±7,69a	30,65±9,11b	6,29±10,31b	25,8
Manual	47,90±13,13a	52,64±15,01a	4,74±7,63a	12,0	22,63±12,39a	56,19±26,53a	33,57±35,94a	51,3

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Quanto ao cortisol, a média da concentração de cortisol nos animais da raça Tabapuã, coletados no modo automático, foi significativamente diferente das médias no modo manual e dos dois modos na raça Nelore apresentando níveis plasmáticos relativamente menores. Ao se verificar a diferença entre o momento antes e depois, não houve diferença significativa na raça Nelore entre os dois modos avaliados, contudo na raça Tabapuã, o modo automático apresentou significativamente menores incrementos concentrações de cortisol.

Em termos percentuais os incrementos nas médias das concentrações de cortisol foram de 61,1% para o modo automático e 93,1% no modo manual para a raça Nelore, e de 25,8% no modo automático e 51,3% no modo manual para a raça Tabapuã.

Whitlock et al (2012) encontraram médias de concentração de cortisol plasmático antes EEJ de 48,44 nmol/l no grupo controle, de 29,36nmol/l em animais apenas sondados, porém sem eletroestimulação, e de 45,41 nmol/l em animais submetidos à EEJ. após a EEJ, foram de 18,34, 27,00 e 62,74 nmol/l para os grupos controle, sondado e eletroestimulados, sendo estas médias diferentes significativamente dos outros grupos.

Marques Filho et al (2008) compararam as concentrações plasmáticas de cortisol em nove semanas de avaliação entre grupos controle e eletroestimulados e verificaram que no grupo Controle, apenas na segunda semana houve aumento significativo, enquanto que para o grupo tratamento houve diferenças significativas nas semanas avaliadas.

Amaral et al (2017) estudaram alterações faciais através de monitoramento por câmeras e o comportamento dos animais revelaram que a estimulação elétrica transretal foi suficientemente desagradável.

Observa-se na literatura que os padrões para a observação de estresse ou dor, ainda não são devidamente padronizados. Frequências cardíaca e respiratória, temperatura retal, cortisol, são referências, contudo não é possível determinar com exatidão se além do estresse ocorra sofrimento aos animais, ou seja, dor. Um trabalho recente de Whitlock et al (2012) afirmam que a utilidade do cortisol como indicador da resposta aguda de estresse e, possivelmente, nocicepção, seguinte a EEJ pode ser limitado por observações de que o cortisol aumenta em resposta à atividade física e com outros comportamentos sexuais. Aumentos no cortisol após EEJ em touros podem significar ativação do eixo hipotálamo-Hipófise-Adrenal por causa do estresse secundário para nocicepção (percepção de dor), ou simplesmente poderia ser parte do processo ejaculatório normal e/ou resposta a atividade física. Estudando um neuropeptídeo marcador no processo da dor, estresse e ansiedade denominado substância P, verificaram que apesar de maior número de vocalizações e aumento da concentração plasmática de cortisol, não observaram, aumento nos níveis plasmáticos da substância P, e interpretaram que as alterações do cortisol na eletroejaculação era provavelmente devido ao estresse agudo, no entanto, a falta de uma diferença nas concentrações plasmáticas da substância P após a eletroejaculação foi interpretada como uma falta de dor associada à nocicepção.

A ejaculação é um processo que ocorre em duas fases: 1) Durante a fase de emissão, o sêmen é expelido dos ductos deferentes e das ampolas para a uretra pélvica, junto



com os fluidos das glândulas anexas. Esta fase é mediada pelo sistema nervoso simpático; 2) Na fase ejaculatória, o sêmen é empurrado da uretra, pelas contrações vigorosas dos músculos uretrais e bulbo-esponjoso, para a uretra peniana e expelido para fora do pênis. Esta fase é mediada pelo sistema nervoso parassimpático (Salisbury et al., 1978).

O sistema nervoso parassimpático, é responsável pelo reestabelecimento do estado de calma após situações estressoras. Os neurônios se localizam no tronco cerebral ou na medula sacral, segmentos S2, S3 e S4. Observa-se aqui, que estes últimos, são justamente os estimulados na EEJ, e uma vez estimulados eletricamente podem promover desaceleração dos batimentos cardíacos, frequência respiratória, diminuição da pressão arterial, a diminuição da adrenalina e açúcar no sangue segundo Ball et al. (1986). Ora, estes parâmetros são justamente o que os trabalhos consultados tentaram observar, porém sem consistência nos achados. Nas figuras 3 e 4, observamos um comportamento atípico ao sugerido na literatura, mas que levanta a tese de que a estimulação elétrica na EEJ, mascara os parâmetros tradicionais de estresse. e verifica-se inclusive depleções em parâmetros relatados como indicadores de estresse.

Possivelmente a eletroestimulação, causa efeitos também além da estimulação para ejaculação, outros efeitos relativos ao sistema parassimpático, levando o animal inclusive ao estado que poderá ser denominado de “calma fisiológica”, ou seja, ativação de mecanismos que mascaram os parâmetros tradicionais de estresse.

Enfim, se faz necessário estudos capazes de mensurar com maior exatidão os eventos fisiológicos que os animais manifestam ao serem coletados com eletroejaculadores, aprimoramento da técnica de eletroejaculação, bem como do aperfeiçoamento dos equipamentos eletroestimuladores.

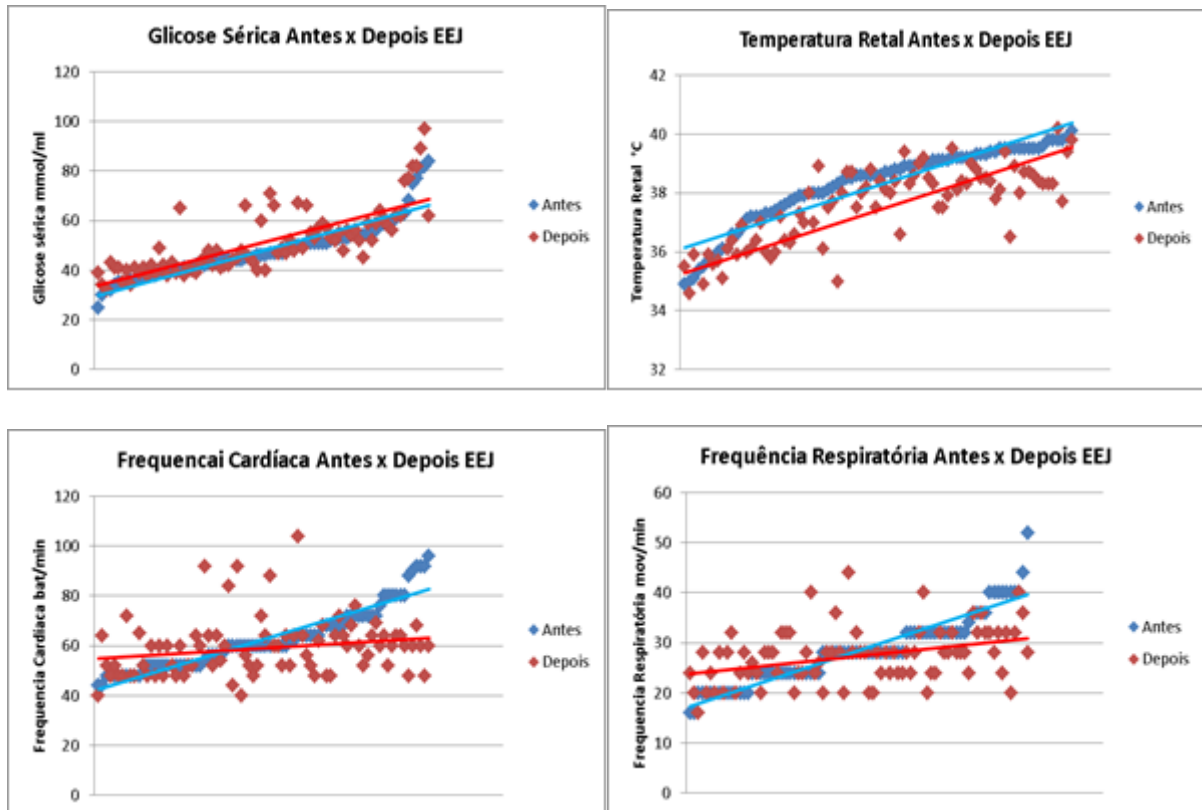


Figura 2 - Avaliações de Glicose Sérica, Temperatura Retal, Frequência Cardíaca e respiratória de todos os 82 touros da primeira fase do experimento nos momentos antes e depois da EEJ.

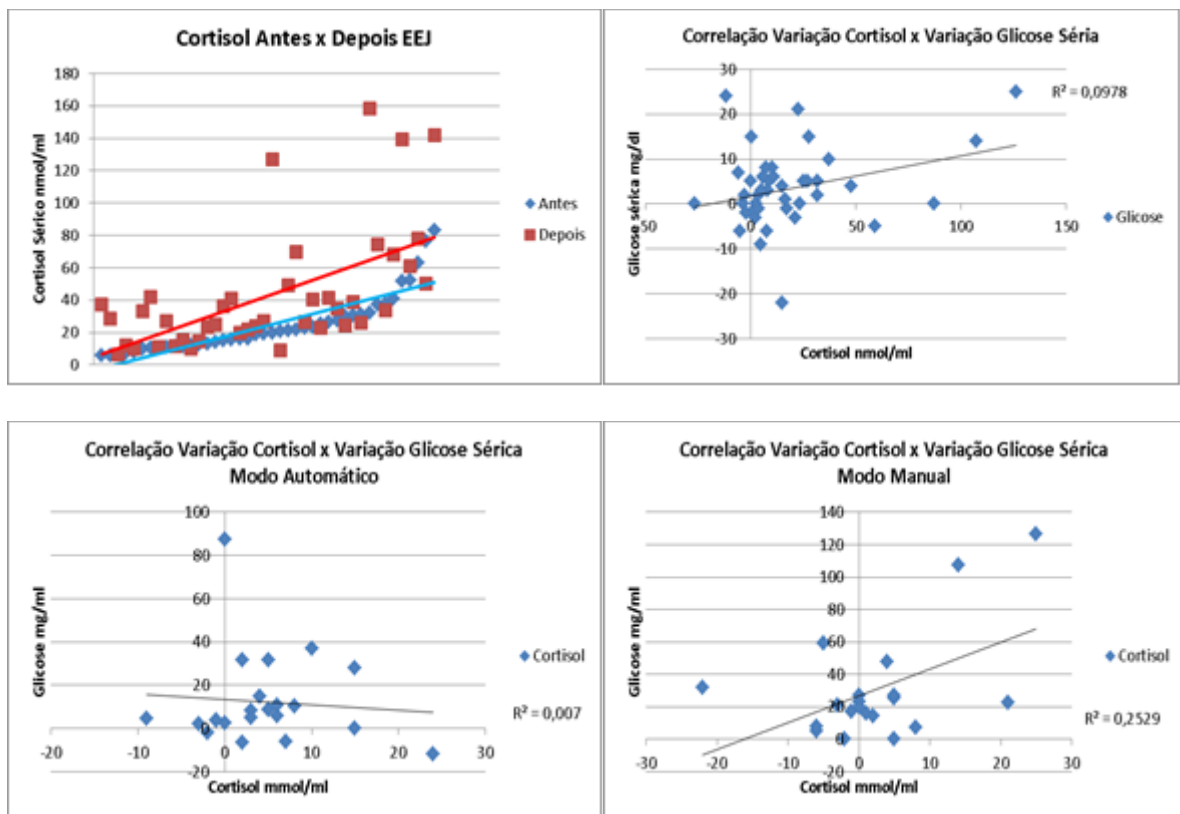


Figura 3 - Distribuição das concentrações de cortisol antes e depois da EEJ e correlações de cortisol e glicose sérica total, modo automático e modo manual dos 42 touros avaliados na segunda fase.

## 5 CONCLUSÕES

Nas condições em que foi realizado este trabalho, conclui-se que a raça Nelore apresentou um desenvolvimento biométrico inicial superior, porém a raça Tabapuã apresentou maiores medidas aos 60 meses.

A Classificação Andrológica por Pontos se mostrou uma ferramenta interessante para selecionar animais por fertilidade, e ainda demonstrou boa correlação na predição dos níveis de testosterona.

Os métodos clínicos tradicionais de avaliação do estresse não foram capazes de comprovar se os animais sofrem estresse no processo de eletroejaculação.

Os níveis de cortisol plasmático foram maiores nos animais submetidos a EEJ no modo manual, sendo portanto, o modo automático de EEJ, uma opção para se minimizar os efeitos estressores no processo de coleta de sêmen.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMARAL, J.B.; PIRES, R.M.L.; AMBROSIO, L.A. OLIVEIRA, F.A.; TREVISAN, G.; Expressão facial, vocalização e posturas anômalas em bovinos submetidos à eletroejaculação convencional. **PUBVET**. v.11, n.11, p.1085-1097, Nov, 2017.
- AMORIM, L.S.; KAWAMOTO, T.S.; TORRES, C.A.A.; GUIMARÃES, J.D.; SILVA FILHO, J.M.; OLIVEIRA, M.M.N.F.; CARVALHO, G.R.; FONSECA, J.F. Influência do Hormônio do Crescimento na concentração de testosterona plasmática e nas características seminais de touros jovens e adultos da raça Nelore. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.67, n.1, p.7-14, 2015.
- ARRUDA, R.P., et al. Morfologia e espermiática de touros: interpretação e impacto na fertilidade. **Rev. Bras. Reprod. Animal**. Belo Horizonte, v.39, n.1, p.47-60, jan./mar. 2015.
- ASBIA. Associação Brasileira de Inseminação Artificial. Informações técnicas sobre inseminação artificial. Disponível em: <<http://www.asbia.org.br/informacoes/inseminacao-artificial>>. Acesso nov. 2017.
- BALL, L. Electroejaculation in bulls. In: TECHNICAL CONFERENCE OF ARTIFICIAL INSEMINATION AND REPRODUCTION, 5th, 1974, **Proceedings**... Madison, USA: National Association of Animal Breeders, 1974, p. 95-100.
- BALL, L. Electroejaculation. In: KLEMM, W. R. (Ed). **Applied electronics for veterinary medicine and animal physiology**. Springfield, IL: Charles C. Thomas, 1986. p. 395-441.
- BARBOSA, R. T. **Comportamento sexual, biometria testicular, aspectos do sêmen e níveis plasmáticos de testosterona em touros Canchim e Nelore**. 1987,135f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, MG, 1987.
- BARBOSA, R. T.; MACHADO, R.; BERGAMASCHI, M. A. C. M. A importância do exame andrológico em bovinos. **Circular Técnica, nº 41**, EMBRAPA Pecuária Sudeste, São Carlos - SP, Dezembro - 2005.
- BARBOSA, RT; FONSECA, V.O.; BARBOSA, P.F. et al. Concentrações plasmáticas de testosterona e suas relações com características reprodutivas em touros das raças

- Canchim e Nelore. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.16, n.1-2, p.1-11, 1992.
- BERNE, R. M.; LEVY, M. N.; KOEPPEN, B. M.; STANTON, B. A. Fisiologia. In: BERNE, R. M.; LEVY, M. N.; KOEPPEN, B. M.; STANTON, B. A. (Eds). **Hipótalamo e Hipófise**. USA: s.n., p.822, 2000.
- BLOM, E. The ultrastructure of some characteristic sperm defects and a proposal for a new classification of the bull spermogram. **Nordisk Veterinary Medicine**, v. 25, n. 7-8, p. 383-391, 1973.
- BOUSSENA, S.; BOUAZIZ, O.; DEHIMI, M. L.; HIRECHE, S.; AIMEUR, R.; KABOUIA, R. The effects of electroejaculation on some physiological parameters (rectal temperature, respiratory and cardiac rates) In: Ouled Djellal breed Slovak **J. Anim. Sci.**, 46, 2013 (1): 16-21.
- BYRNE, C.J.; FAIR, S. ; ENGLISH, A.M.; URH, C. ; SAUERWEIN, H.; CROWE, M.A. ; LONERGAN, P. ; KENNY, D.A. Effect of breed, plane of nutrition and age on growth, scrotal development, metabolite concentrations and on systemic gonadotropin and testosterone concentrations following a GnRH challenge in young dairy bulls. **Theriogenology**. July 1, 2017. Vol 96, pag 58-68.
- CBRA, Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 3 ed., Belo Horizonte: CBRA, 2013. 104p.
- CBRA. Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. In: HENRY, M., NEVES, J.P. **Exame andrológico**. Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1998. Cap.2, p.8-17.
- CHACUR, M.G.M. et al. Influência da estação do ano nas características do sêmen e na concentração de hormônios em touros Nelore e Simental. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte, v. 64, n. 3, p. 540-546, June, 2012.
- CHACUR, M.G.M.; SIRCHIA, F.P.; ZERBINATTI, E.P.; KRONKA, S.N.; OBA, E.. Relação entre circunferência escrotal, libido, hormônios e características do sêmen em touros Brangus e Pardo-Suíço **Acta Scientiae Veterinariae**. 35(2): 173-179, 2007.
- CHAVES, R.M.; SOUZA, J.A.T.; NASCIMENTO, I.M.R. et al. Avaliação da capacidade reprodutiva de touros da raça Nelore através da classificação andrológica por pontos (CAP) e do teste da libido. **Medicina Veterinária**, v.1, p.26-32, 2007.
- CHENOWETH, P. J.; BALL, L. Breedingsoundness evaluation in bulls. In: MORROW, D. A. **Current Therapy in Teriogenology**. W. B.Saunders Company, 1980. Cap. 5, p.330-339.
- CORRÊA, A.B.; VALE FILHO, V.R.; CORRÊA, G.S.S.; ANDRADE, V.J.; SILVA, M.A.; DIAS, J. C. Características do sêmen e maturidade sexual de touros jovens da raça Tabapuã (*Bos taurus indicus*) em diferentes manejos alimentares **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** vol.58 no.5 Belo Horizonte Oct. 2006.

- CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de fisiologia veterinária**. 2. ed. São Paulo: s.n., 1997. 352p.
- CYRILLO, J.N.S.G.; RAZOOK, A.G.; FIGUEIREDO, L.A.; BONILHA NETO, L.M.; MERCDANTE, M.E.Z.; TONHATI, H. Estimativas de tendências e parâmetros genéticos de peso padronizado aos 378 dias de idade, medidas corporais e perímetro escrotal de machos nelore de Sertãozinho, SP. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 1, p. 56-65, 2001.
- DIAS, J.C.; ANDRADE, V. J.; VALE FILHO, V.R.; ALMEIDA E SILVA, M.. Biometria testicular e aspectos andrológicos de touros Nelore (*Bos taurus indicus*), de dois e três anos de idade, criados extensivamente. **Veterinária Notícias**, v. 13, n. 2 (2007).
- DIAS, J.C.; EMERICK, L.L.; ANDRADE, V.J.; MARTINS, J.A.M.; VALE FILHO, V.R.. Concentrações séricas de testosterona em touros jovens guzerá e suas associações com características reprodutivas. **Archives of Veterinary Science** v.19, n.1, p.24-31, 2014.
- FERRAZ, H.T. **Histomorfometria testicular e sua associação com a qualidade seminal em machos nelore**. Tese Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás. 2011 P.68.
- FIELDS, M.J.; BURNS, W.C.; WARNICK, A.C. Age, season and breed effects on testicular volume and semen traits in young beef bulls. **J. Anim. Sci.**, 1979.48(6):1299-1304.
- FIELDS, M.J.; HENTGES, J.F.; CORNELISSE, K.W. .Aspects of the sexual development of Brahman versus Angus bulls in Florida. **Theriogenology**, v.18, p.17-31, 1982.
- FONSECA, V. O. et al. Potencial reprodutivo de touros da raça Nelore (*Bos taurus indicus*) em monta natural: proporção touro vaca 1:40 e fertilidade. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.15, n.1/2, p.103-108, 1991.
- FONSECA, V. O.; FRANCO, C. S.; BERGMANN, J. A. G. et al. Potencial reprodutivo de touros da raça Nelore (*Bostaurus indicus*) acasalados com elevado número de vacas. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.49, p.53-62, 1997.
- FONSECA, V. O.; SANTOS, N. R.; MALINSKI, P. R. Classificação andrológica de touros zebus (*Bos taurus indicus*) com base no perímetro escrotal e características morfo-físicas do sêmen. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 21, n. 2, p. 36-39, 1997.
- FRENEAU, G.E.; PUOLI, J.R.; ARNHOLD, E.. Evolução após quatro anos de aplicação da capacidade andrológica por pontos (CAP) em touros nelore e estudo da relação com a prenhez em estação de acasalamento. **Cienc. anim. bras.**, Goiânia, v.18, 1-12, e-31274, 2017.
- GUYTON, A. C.; Hall JE. Os hormônios adrenocorticais. In: GUYTON, A. C. **Tratado de fisiologia médica**. 9a. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1997.p. 871-80.
- HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. **Reproduction in Farm Animals**. 7.ed. São Paulo, 2000, 582p.
- HAFEZ, E.S.E. **Reprodução Animal**. 7.ed. São Paulo: Manole, 2003.530p.

- HEBBEL, J.S.et al. Desenvolvimento reprodutivo e alterações do peso corporal em touros jovens das raças Gir, Guzerá, Nelore e Caracu I. *Biometria Testicular*. Jaboticabal: **ARS - Veterinária**, v. 16, n.3, p. 178-187, Dez., ano XV, 2000.
- HENRY, M.; NEVES, J. P. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**.2.ed. Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1998. 49p.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Indicadores da pecuária** - 2016.iv e acumulado de 2016. Disponível em <ftp://ftp.ibge.gov.br/...Pecuaria/...IBGE/2016/abate-leite-couro-ovos\_201604caderno....Atualizado em 15/03/2017 às 9:00 horas.Acesso em 18/06/2017.
- KASTELIC, J.P.et al. **Novos métodos de avaliação da capacidade reprodutiva de touros**. Embrapa, São Carlos, 1997.
- KATONGOLE, C. B. A competitive protein – binding assay for testosterone in the plasma of bull and ram. **Journal of Endocrinology**. 1971;51(2):303-312.
- LEZIER, D.H.. **Avaliação da biometria testicular, concentração plasmática de hormônios e minerais em bovinos nelore variedade mocha dos 12 aos 24 meses de idade**. (Tese Doutorado Área de Concentração: Reprodução Anima) Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Campus De Botucatu Botucatu-SP – 2003.
- LOPES, F.G.; KOETZ JUNIOR, C.; BARCA JÚNIOR, F.A.; OKANO, W.; SILVA, L.C.; SILVA JÚNIOR, M.A.G.. Maturidade sexual e classificação andrológica por pontos (CAP) em touros jovens da raça nelore puros de origem (PO). **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 29, n. 1, p. 168-173, Jan./Feb. 2013.
- LUEDTKE, C. B. et al. **Abate humanitário de aves**. WSPA – Sociedade Mundial de Proteção Animal. Rio de Janeiro - RJ p. 120. 2010.
- MACHADO, P.P.; SOUSA, A.L.; REIS, L.F. et al. Modelos matemáticos e correlações de medidas morfométricas testiculares de Bovinos Zebuínos e Azebuados abatidos em São Luís, MA. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.36, n.1, 2012. Disponível em: <<http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v36n1/pag51-61.pdf>>. Acesso em 12/12/2017.
- MARQUES FILHO, W.C.; FERREIRA, J.C.P.; FUJIHARA, C.J.; HEITMAN, F.J.; FERRAZ, M.C.; MONTEIRO, A.L.R.; MAZIEIRO, R.R.D.; MÁRTIN, I.; OBA, E. Avaliação do estresse em touros Nelore (*Bos taurus indicus*) submetidos à eletroejaculação. **Veterinaria e Zootecnia**, v. 15, n. 3, p. 531-541, 2008.
- MARTINS, C.F. **Avaliação do Reprodutor** – Exame Geral e Específico. Métodos de Coleta de Sêmen. In: DODE, M.A.N.et al. Curso de Andrologia. Embrapa. Brasília, 2004. p. 39 a 50.
- MASCARENHAS, H.; GOMES, W.V. Contribuição ao estudo da eletroejaculação em bovinos. Novo tipo de eletrodo bipolar e técnica de sua aplicação. **Instituto de Zootecnia**, v. 8, 1950.

- MCDONALD, L. E. Veterinary endocrinology and reproduction. In: PINEDA, M. H. (Eds). **Male reproductive system**. 1989, p. 239-281.
- MENEZES, E.B.; ANDRADE, C.R.; CARNEIRO-JÚNIOR, J.H.; RODRIGUES, G.C.; MARTINS FILHO, R.; ARAÚJO, A.A.; MOURA, A.A.A.. Biometria testicular, concentrações periféricas de testosterona, parâmetros seminais e número de células de Sertoli e germinativas em touros Nelore. **Semina: Ciências Agrárias**. Universidade Estadual de Londrina Londrina, Brasil vol. 35, núm. 5, septiembre-octubre, 2014, pp. 2437-2447.
- METZKER FILHO, G.D.. Princípios da eletroejaculação. Reunião da Associação Brasileira de Andrologia Animal (ABRAA) (2: 2017: Uberlândia, MG). **Anais**. 2ª Reunião da Associação Brasileira de Andrologia Animal (ABRAA), Uberlândia, MG, 09 a 10 de junho de 2017 [recurso eletrônico] / organizado por Juliana Corrêa Borges Silva ... [et al.]. – Dados eletrônicos. – Corumbá: Embrapa Pantanal, 2017. 201 p. 49 – 52. (Documentos / Embrapa Pantanal, ISSN 1981-7223; 146).
- MIES FILHO, A. **Reprodução dos animais e inseminação artificial**. 4.ed. Sulina, v. 1, 1977, 359p.
- MIYASAKI, A. A. **Relação do volume testicular com nível sérico de testosterona e crescimento corporal em Brahman dos 8 aos 18 meses de idade**. 2014, 54p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Unoeste. Presidente Prudente-S.P., 2014.
- MOSURE, W. L.; MEYER, R. A.; GUDMUNDSON, J.; BARTH, A. D. Evaluation of possible methods to reduce pain associated with eletorejulation in bulls. **Canadian Veterinary Journal**, v. 39, p. 504-506, 1998.
- MOURA, A.A.A.; RODREIGUES, G.C.; MARTINS FILHO, R.; Desenvolvimento Ponderal e Testicular, Concentrações Periféricas de Testosterona e Características de Abate em Touros da Raça Nelore **R. Bras. Zootec.**, v.31, n.2, p.934-943, 2002 (suplemento).
- MOURA, M.I.; SILVA, L.A.F.; FONSECA, A.M.; HELOU, J.B.; FREITAS, S.L.R.; CAETANO, L.B.; PRADO, T.D.. Níveis séricos de testosterona em bovinos da raça nelore com dermatite digital. Anais do VIII Congresso Brasileiro de Buiatria. **Ciência Animal Brasileira**. Suplemento 1, 2009.
- NEVES, A.L.A.. **Biometria e morfologia testicular em bovinos da raça nelore criados a pasto**. Itapetinga-Ba: Mestrado Zootecnia /UESB-Itapetinga, 2007.49p. Il.
- OBA, E.. **Estudo das características quantitativas e qualitativas do soro sanguíneo e do sêmen de bovinos Nelore em diferentes idades**. 1985. 65f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- OTTERSACH, R.A., SANTOS, R.; GERMANO, R.M. Variações de cortisol sérico em bovinos de corte (*Bos taurus indicus*) Nelore e (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*) cruzamento industrial, durante o processo de abate. **PUBVET**, Londrina, V. 2, N. 42, Art#398, Out4, 2008.



- PAGLIOSA, R.C.; DE ROSSI, R.; COSTA, D.S.; FARIAS, F.C. Efficacy of caudal epidural injection of lidocaine, xylazine and xylazine plus hyaluronidase in reducing discomfort produced by electroejaculation in bulls. **Journal of Veterinary Medicine Science**, v. 77, n. 11, p. 1339–1345, 2015.
- PALMER, C. W. Welfare aspects of theriogenology: investigating alternatives to electroejaculation of bulls. **Theriogenology**, v. 64, p. 469-479, 2005.
- PINTO, P. A. et al. Avaliação da biometria testicular e capacidade de monta em bovinos das raças Guzerá e Nelore. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v.13, p.151-156, 1989.
- POST, T.B.; CHRISTENSEN, H.R.; SEIFERT, G.W. Reproductive performance and productive traits of beef bulls selected for different levels of testosterone response to GnRH. **Theriogenology**, v.27, p.317-328, 1987.
- QUINTILIANO, M. H. E PARANHOS DA COSTA, M. J. R. (2006) [CD ROM]. **Manejo racional de bovinos de corte em confinamentos: produtividade e bem-estar animal**. Anais. In: IV SINEBO V, 2006, Seropédica, RJ.
- RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica Veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos, eqüinos**. 9. ed. São Paulo, 2000. 1737p.
- RANDALL, D.; BURGGREN, W.; FRENCH, K. **Fisiologia animal: mecanismos e adaptações**. 4.ed. São Paulo, 2000, 870p.
- ROSSI, D.M.. **Causas de reprovação de touros Nelore e Tabapuã criados na região Norte do Paraná**. (Dissertação Mestrado). Arapongas: UNOPAR, 2015. 42p.
- SALISBURY, G. W. **Physiology of reproduction and artificial insemination of cattle**. 2d ed. San Francisco: W. H. Freeman, c1978. xvii, 798 p : ill.; 25 cm.
- SANCHES, A.C. **Concentrações plasmáticas de testosterona e suas relações com características reprodutivas e morfométricas de touros jovens das raças Nelore e Santa Gertrudis**. 1999. 83f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.
- SANCHES, A.C.; LÔBO, R.B. **Precocidade em touros zebuínos jovens. Avaliação genética de animais jovens, touros e matrizes**. Ribeirão Preto: GEMAC – Departamento de Genética – FMRP – USP, 1998. p.56.
- SANTOS, M.D. **Perfil de testosterona e metabólitos lipídicos, circunferência escrotal e aspectos do sêmen de touros zebu alimentados com dois níveis de concentrado e lipídeos**. 1996. 64p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- SANTOS, M.D.; TORRES, C.A.A.; RUAS, J.R.M.; MACHADO, G.V.; COSTA, D. S; MAZA, L.A.. Concentração sérica de testosterona em touros zebu. **Rev. bras. zootec.**, 29(3):738-744, 2000.

- SEVERO, N. C. **História ilustrada da inseminação artificial**. São Paulo: Livre Expressão, 2013. 408 p.
- SILVA, A. E. D. F.; UNANIAN, M. M.; CORDEIRO, C. M. T.; FREITAS, A. R. Relação da circunferência escrotal e parâmetros de qualidade de sêmen em touros da raça nelore PO. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n.3, p. 1157-1165, 2002.
- SILVA, A.E.D.F.; DODE, M.A.N.; PORTO, J.A. Efeito da estacionalidade nas características testiculares espermáticas de touros Nelore e mestiços. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, Belo Horizonte, 1987. **RESUMOS**. Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, Belo Horizonte, 1987. 55 p.
- SILVA, A.E.D.F.; DODE, M.A.N.; UNANIAN, M.M. Capacidade Reprodutiva do Touro de Corte: funções, anormalidades e fatores que a influenciam. Embrapa – CNPGC. Campo Grande, 1993. Disponível em:<<http://www.cnpqc.embrapa.br/publicacoes/doc/doc51/03avaliacaocapacidadehml>. Acesso em 25/08/17.
- SILVA, A.M.; ALENCAR, M. M.; FREITAS, A.R.; BARBOSA, R.T.; OLIVEIRA, M.C.S.; NOVAES, A.P.; TÚLIO, R.R.; CORRÊA, L.A. Herdabilidade e correlações genéticas para peso e perímetro escrotal de machos e características reprodutivas e decrescimento de fêmeas da raça Canchim. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 6, Suplemento 2, p. 2223-22230, 2000.
- SIQUEIRA, J.B.; GUIMARÃES, J.D.; PINHO, R.O. Relação entre perímetro escrotal e características produtivas e reprodutivas em bovinos de corte: uma revisão. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.37, n.1, p.3-13, 2013. Disponível em: <<http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v37n1/p3-13%20%28RB262%29.pdf>>. Acesso em: 25/08/2017.
- UNANIAN, M.M.; SILVA, A.E.D. F.; McMANUS, C.; CARDOSO, E.P.. Características biométricas testiculares para avaliação de touros zebuínos da raça Nelore. **R. Bras. Zootec.** [online]. 2000, vol.29, n.1, pp.136-144.
- VALE FILHO, V. R. Andrologia no touro: avaliação genital, exame do sêmen e classificação por pontos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.21, n.3, p.7-13, 1997.
- VALE FILHO, V. R. Padrões de sêmen bovino, para o Brasil. Análise e sugestões. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 8, 1989, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: CBRA, p.94-118, 1989.
- VALE FILHO, V. R. Subfertilidade em touros: parâmetros para avaliação andrológica e conceituação geral. **Cad. Tec. Vet. Zootec.**, n.35, p.81-87, 2001.
- VALLE, E.R.; DODE, M.A.N. Efeito do tempo e da temperatura, entre a coleta e a centrifugação, na concentração de progesterona do soro e plasma de vacas Nelore. **Pesquisa Agropecuária Bras**, v.26, n.4, p.479-485, 1991.

WHITLOCK, B.K.; COFFMAN, E.A.; COETZEE, J.F.; DANIEL, J. A. Electroejaculation increased vocalization and plasma concentrations of cortisol and progesterone, but not substance P, in beef bulls. **Theriogenology**, v. 78, n. 4, p. 737–746, 2012.