

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**PARÂMETROS REPRODUTIVOS EM TOUROS NELORE
CRIADOS EM REGIÃO DE CLIMA TROPICAL SEMIÚMIDO:
FERRAMENTAS AUXILIARES PARA A ESCOLHA DO
REPRODUTOR**

**Luana Gomes Fernandes
Médica Veterinária**

2021

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**PARÂMETROS REPRODUTIVOS EM TOUROS NELORE
CRIADOS EM REGIÃO DE CLIMA TROPICAL SEMIÚMIDO:
FERRAMENTAS AUXILARES PARA A ESCOLHA DO
REPRODUTOR**

Discente: Luana Gomes Fernandes

Orientador: Prof. Dr. Fabio Morato Monteiro

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária, Área: Reprodução Animal.

2021

F363p	<p>Fernandes, Luana Gomes</p> <p>Parâmetros reprodutivos em touros Nelore criados em região de clima tropical semiúmido: ferramentas auxiliares para a escolha do reprodutor / Luana Gomes Fernandes. -- Jaboticabal, 2021</p> <p>49 p. : tabs., fotos</p> <p>Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal</p> <p>Orientador: Fabio Morato Monteiro</p> <p>1. Bovinos. 2. Fertilidade. 3. CASA. 4. Termografia infravermelha. 5. Ultrassonografia testicular. I. Título.</p>
-------	---

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: PARÂMETROS REPRODUTIVOS EM TOUROS NELORE CRIADOS EM REGIÃO DE CLIMA TROPICAL SEMIÚMIDO: FERRAMENTAS AUXILIARES PARA A ESCOLHA DO REPRODUTOR


AUTORA: LUANA GOMES FERNANDES

ORIENTADOR: FABIO MORATO MONTEIRO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em MEDICINA VETERINÁRIA, área: Reprodução Animal pela Comissão Examinadora:


Pesquisador Dr. FABIO MORATO MONTEIRO (Participação Virtual)
Instituto de Zootecnia / Sertãozinho/SP


Prof. Dr. ANDRÉ MACIEL CRESPILHO (Participação Virtual)
Universidade Santo Amaro-UNISA / São Paulo/SP


Profa. Dra. MARIA EMILIA FRANCO OLIVEIRA (Participação Virtual)
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 02 de julho de 2021

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Luana Gomes Fernandes, nascida em Formosa do Oeste – Paraná, aos seis dias do mês de novembro do ano mil novecentos e noventa e cinco. Possui graduação em Medicina Veterinária pela Universidade Federal do Paraná (UFPR) Setor Palotina, ano de dois mil e treze a dois mil e dezoito. Durante o período desenvolveu projeto de pesquisa no programa de Iniciação Científica. Participou de projetos de extensão, diversos cursos de aprimoramento e atualizações, além de congressos e estágios extracurriculares. Realizou estágio curricular na área de Reprodução Animal no Instituto de Zootecnia – Centro Avançado de Pesquisa de Bovinos de Corte, sob orientação do Dr. Fabio Morato Monteiro. Em agosto de dois mil e dezoito colou grau e foi premiada como melhor aluna da XXVI Turma de Medicina Veterinária da UFPR/Setor Palotina. Foi aprovada na seleção de mestrado da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Jaboticabal, para início do curso em março de dois mil e dezenove. Durante o período participou e apresentou trabalhos em congressos. Ao final gerou o trabalho intitulado “Parâmetros reprodutivos em touros Nelore criados em região de clima tropical semiúmido: Ferramentas auxiliares para a escolha do reprodutor” sob orientação do Dr. Fabio Morato Monteiro.

“...O preço é alto. A gente se questiona, a gente se culpa, a gente se angustia. Mas o destino, a vida e o peito às vezes pedem que a gente embarque. Alguns não vão. Mas nós, que fomos, viemos e iremos, não estamos livres do medo e de tantas fraquezas. Mas estamos para sempre livres do medo de nunca termos tentado. Keep walking.”

Ruth Manus

Dedico

Aos meus pais, Alfredo F. Fernandes e Zilda G. P. Fernandes
e ao meu irmão Allan Gomes Fernandes.

AGRADECIMENTOS

A Deus e a Nossa Senhora Aparecida por todas as bênçãos recebidas até aqui e pela oportunidade de estar concluindo mais essa etapa. Muito obrigada por sempre me fazer sentir Vossas presenças e por guiarem meus passos!

A minha família, meus pais e meu irmão, minha base, minha referência e exemplos de vida. Meu eterno agradecimento por mesmo de longe sempre estarem presentes, por sempre me apoiarem e incentivarem e por não medirem esforços para me verem feliz. Tudo o que faço e farei é para que vocês sempre sintam-se orgulhosos. Eu amo vocês!

A minha avó por todo amor e carinho, e a todos os familiares que me incentivam e torcem por mim.

Ao meu orientador, Dr. Fabio Morato Monteiro, agradeço pela confiança, atenção, paciência, risadas, broncas, e por todo conhecimento transmitido ao longo desses dois anos de mestrado.

A Dra. Maria Eugênia Zerlotti Mercadante, pesquisadora do Instituto de Zootecnia, que apesar de não ser oficialmente minha coorientadora, sempre esteve disposta a me ajudar, meu muito obrigada.

Aos companheiros de laboratório e “curral”, Marcelo, Marina e Naiara. Os manejos não seriam os mesmos sem vocês, obrigada por todas as risadas, momentos difíceis compartilhados e superados, por todo apoio durante a execução e elaboração desse trabalho.

A casa dos mestrandos do IZ, que por dois anos foi meu segundo lar e proporcionou-me uma segunda família, minha família paulista. Apesar de estar longe de casa e em outro Estado, nunca estive sozinha, vocês são irmãos que levarei no coração por onde quer que eu vá, carregarei as lembranças de cada comigo: Marina, Tati, Joycinha, Gabizinha, Lorena, Marcelo, Valesca, Dani, David, Ricardo, Catiucia, Leonardo e Fernanda. Obrigada por fazerem meus dias mais felizes e aliviarem o peso das batalhas, obrigada por tanto!

As amigas pós-graduandas Katiucha e Rafaela, por dividirem comigo alegrias e angústias. Obrigada pela amizade construída nesse tempo.

Aos funcionários do Instituto de Zootecnia, em especial ao Leu, Dona Irma, Dona Arlete, Dona Tereza, Aline, Estela, Batata, Valdir, Pedrinho Sr. Braz e os campeiros sempre prestativos e companheiros, que tanto me auxiliaram.

A UNESP e ao Departamento de Reprodução Animal por tudo que me proporcionaram.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

A todos que de alguma forma estiveram envolvidos neste projeto, auxiliando e tornando possível a conclusão deste trabalho!

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais	1
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1. Termorregulação escrotal	2
2.2. Avaliação andrológica	3
2.3. Termografia infravermelha	6
2.4. Índice de Temperatura e Umidade – ITU	8
2.5. Ultrassonografia testicular	9
REFERÊNCIAS.....	12
CAPÍTULO 2 - Parâmetros reprodutivos em touros Nelore criados em região de clima tropical semiúmido: ferramentas auxiliares para a escolha do reprodutor	20
1. INTRODUÇÃO	21
2. MATERIAL E MÉTODOS	22
2.1. Local, período de execução e animais	22
2.2. Delineamento experimental.....	23
2.3. Índice de temperatura e umidade – ITU	24
2.4. Termografia Infravermelha	24
2.5. Avaliação ultrassonográfica dos testículos.....	25
2.6. Colheita e avaliação do sêmen	27
2.7. Taxa de concepção dos touros	28
2.8. Análise Estatística	29
3. RESULTADOS.....	29
4. DISCUSSÃO	37
5. CONCLUSÃO	42
REFERÊNCIAS.....	43

Certificado da Comissão de Ética no Uso de Animais



Protocolo nº 289-19

Governo do Estado de São Paulo
Secretaria de Agricultura e Abastecimento
Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios
Instituto de Zootecnia

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo intitulado “**AValiação da Termorregulação Escrotal por meio da Termografia Infravermelha e sua Influência na Fertilidade e na Criopreservação de Sêmen Bovino**”, protocolo nº **289-19**, sob a responsabilidade de Fabio Morato Monteiro e colaboradores: Maria Eugênia Zerlotti Mercadante, Naiara Nantes Rodrigues, Marina de Oliveira Silva, Marcelo Sant’Ana Borges, Guilherme Fazan Rossi, que envolve a utilização de bovinos para fins de projeto de pesquisa – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899 de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), tendo sido aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) do INSTITUTO DE ZOOTECNIA, em reunião de **05/06/2019**.

Finalidade	<input type="checkbox"/> Ensino <input checked="" type="checkbox"/> Pesquisa Científica <input type="checkbox"/> Treinamento
Vigência do Projeto	10/06/2019 a 31/05/2021
Espécie/Linhagem	Bovinos, Nelore
No. de Animais	34
Peso/Idade	550 kg / 24 a 36 meses
Sexo	Machos
Origem	Biotério do Centro de Pesquisa em Bovinos de Corte do Instituto de Zootecnia

Cecília José Veríssimo
Presidente CEUA-IZ

PARÂMETROS REPRODUTIVOS EM TOUROS NELORE CRIADOS EM REGIÃO DE CLIMA TROPICAL SEMIÚMIDO: FERRAMENTAS AUXILARES PARA A ESCOLHA DO REPRODUTOR

RESUMO – O estudo teve como objetivos monitorar as características reprodutivas de touros Nelore antes e após a estação de monta natural (EMN) em regiões de clima tropical semiúmido, e ainda, avaliar se as técnicas de termografia infravermelha (TIV), ultrassonografia testicular modo-B e modo Doppler, e análise computadorizada do movimento espermático (CASA) podem fornecer indicadores de fertilidade em touros Nelore submetidos EMN. Foram utilizados 29 touros Nelore, com idade entre 30 ± 06 meses e peso corporal médio de $592,30 \pm 84,89$ kg. Foram realizadas três avaliações antes dos animais entrarem na EMN (setembro, outubro e novembro) e três avaliações após a saída da EMN (março, abril e maio), todas com intervalo de 28 dias entre elas. Em todas as avaliações, foi realizada mensuração do índice de temperatura e umidade (ITU), avaliação da cinética espermática por meio da técnica CASA e de morfologia espermática por meio de microscopia de contraste de interferência diferencial (DIC), imagens termográficas da região escrotal e ocular, ultrassonografia modo-B no testículo e modo Doppler no cordão espermático. Ao final da EMN, mediante resultado da taxa de prenhez dos lotes individuais, os touros foram classificados em grupos de baixa (BF), média (MF) e alta (AF) fertilidade. A técnica TIV não apresentou nenhum indicador de fertilidade entre os grupos. Entre os parâmetros fornecidos pela técnica CASA, velocidade média do trajeto (VAP) e velocidade em linha reta (VSL) apresentaram diferença entre os grupos de fertilidade (BF: VAP = $100,02 \mu\text{m/s}$, VSL = $79,84 \mu\text{m/s}$; AF: VAP = $110,98 \mu\text{m/s}$; VSL = $87,05 \mu\text{m/s}$, respectivamente). Índices vasculares fornecidos pela ultrassonografia Doppler também foram diferentes entre os grupos (BF: IP = 0,69, IR = 0,48; AF: IP = 0,93; IR = 0,57). As avaliações antes e após a EMN permitem concluir que, a utilização de touros Nelore em EMN em regiões de clima tropical semiúmido, é viável por não apresentar reflexos negativos nas características reprodutivas. E ainda que, a TIV não é capaz de fornecer indicadores de fertilidade para touros Nelore. No entanto, VAP e VSL fornecidos pela técnica CASA e IP e IR fornecidos por ultrassonografia Doppler podem ser considerados indicadores de fertilidade.

Palavras-chave: Sêmen, indicadores de fertilidade, CASA, termografia, ultrassonografia

REPRODUCTIVE PARAMETERS IN NELORE BULLS IN A REGION WITH TROPICAL SEMI-HUMID CLIMATE: AUXILIARY TOOLS FOR CHOOSING THE BREEDERS

ABSTRACT - The aims of this study were to monitor the reproductive traits of Nelore bulls before and after the natural breeding season (NBS) in semi-humid tropical climate regions and to evaluate if the infrared thermography techniques (ITT), testicular ultrasonography B-mode and Doppler mode, and Computer-Assisted Semen Analysis (CASA) can provide fertility indicators in Nelore bulls submitted to NBS. Twenty-nine Nelore bulls were used, with a mean age of 30 ± 06 months and mean body weight of 592.30 ± 84.89 kg. Three evaluations were carried out before start the NBS (September, October and November) and three evaluations after the animals left the NBS (March, April and May), all evaluations with an interval of 28 days between them, in two consecutive NBS (2018-2019 and 2019-2020). In all evaluations were measured temperature-humidity index (THI), semen evaluation by CASA and sperm morphology techniques, evaluation of sperm kinetics using the CASA technique and sperm morphology using differential interference contrast microscopy (DIC), thermographic images of the scrotal and ocular region, B-mode ultrasonography in the testicle and Doppler mode in the spermatic cord. At the end of the NBS the bulls were classified in groups of low (LF), medium (MF) and high (HF) fertility, based on the pregnancy rate of the individual lots. The ITT did not show any indicator of fertility between groups. Among the parameters provided by the CASA technique, average path velocity (VAP) and straight linear velocity (VSL) differed between fertility groups (LF: VAP= $100.02 \mu\text{m/s}$, VSL= $79.84 \mu\text{m/s}$; HF: VAP= $110.98 \mu\text{m/s}$; VSL= $87.05 \mu\text{m/s}$, respectively). Pulsatility (PI) and Resistivity index (RI) provided by Doppler ultrasonography were also different between groups (LF: IP=0.69, IR=0.48; HF: IP=0.93; IR=0.57). The evaluations before and after NBS allow us to conclude that the use of Nelore bulls in NBS in regions of semi-humid tropical climate is viable as it does not present negative effects on reproductive traits. Furthermore, ITT is not able to provide fertility indicators for Nelore bulls. However, VAP and VSL provided by CASA technique and PI and RI provided by Doppler ultrasonography can be considered indicators of fertility.

Keywords: Semen, fertility indicators, CASA, thermography, ultrasonography.

CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais

1. INTRODUÇÃO

A elevação da temperatura do globo terrestre tem gerado maiores desafios de adaptabilidade para bovinos de corte, principalmente em regiões de clima tropical e subtropical. Como agravante, nos sistemas de criação extensiva, os acasalamentos ocorrem durante os meses mais quentes do ano, o que expõe os animais a um ambiente com potenciais riscos a fertilidade (Lunstra e Coulter, 1997; Berry et al., 2011).

Altas temperaturas podem levar ao comprometimento dos mecanismos termorregulatórios, e apresentar consequências diretas na qualidade seminal, como redução da cinética espermática e aumento da porcentagem de defeitos morfológicos, o que reduz o potencial reprodutivo do touro (Kastelic et al., 2001; Menegassi et al., 2015). Logo, observa-se a importância de se estudar os reflexos da temperatura ambiental nas características reprodutivas, o que pode ajudar na melhor seleção de animais.

A seleção de reprodutores é feita por meio da avaliação andrológica, a qual se baseia em um compilado de técnicas, que juntas, predizem o potencial reprodutivo do touro (Silva et al., 2015). A análise da qualidade seminal é uma das etapas mais importantes da avaliação andrológica e engloba técnicas que avaliam a capacidade fecundante dos espermatozoides por meio de parâmetros relacionados a concentração, motilidade e morfologia espermática (Palmer, 2016).

Os avanços da ciência proporcionam além de técnicas convencionais, a utilização de novas ferramentas que auxiliam a andrologia, tais como a termografia infravermelha e a ultrassonografia testicular (Bourgon et al., 2018; Kastelic et al., 2018). A técnica de termografia infravermelha (TIV) tem sido usada como método não invasivo, e seguro de mensuração da temperatura superficial corpórea dos animais (Eddy et al., 2001). Na área de andrologia, a técnica tem auxiliado principalmente nos estudos sobre termorregulação testicular (Stelletta et al., 2012).

A ultrassonografia testicular, além de fornecer informações sobre a integridade do parênquima testicular com imagens em modo-B, pode também ser usada para

avaliar o fluxo sanguíneo nos testículos com a técnica Doppler, que permite inferir sobre a termorregulação testicular (Kastelic e Brito, 2012; Gloria et al., 2018). Embora as técnicas já tenham sido utilizadas, faz-se necessário mais estudos sobre a aplicabilidade diagnóstica da TIV e da ultrassonografia testicular na avaliação andrológica.

Dessa forma, o presente estudo foi delineado para verificar o efeito das condições climáticas ambientais sobre características reprodutivas de touros Nelore antes e após a estação de monta natural (EMN). Além disso, avaliar se as técnicas de termografia infravermelha, ultrassonografia testicular, e análise computadorizada do movimento espermático (CASA) podem fornecer indicadores de fertilidade em touros Nelore, em regime de EMN.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Termorregulação escrotal

Os testículos possuem duas funções primordiais, a produção de gametas masculinos (espermatozoides) e a síntese de hormônios esteroides e proteicos (Hopper, 2015). Para o perfeito desempenho dessas funções, a temperatura testicular deve permanecer abaixo da temperatura corporal do animal, cerca de 2 a 5°C (Lunstra e Coulter, 1997).

A regulação da temperatura testicular depende de vários mecanismos, os quais podem ser divididos em dois componentes: não-vascular e vascular (Rizzoto e Kastelic, 2020). A termorregulação não-vascular inclui o próprio aspecto anatômico do escroto, que por ser penduloso, permite o distanciamento da cavidade abdominal e maior área de radiação reduzindo a temperatura testicular (Hafez e Hafez, 2004). O musculo cremáster que desempenha função de aproximação e distanciamento da do escroto em relação a cavidade abdominal. A pele escrotal é tipicamente fina e com pouca cobertura pilosa, facilitando a perda de calor, além de ser dotada de uma grande quantidade de glândulas sudoríparas que auxiliam a perda de calor por sudorese (Hopper, 2015). É interessante notar que, raças zebuínas apresentam maior superfície de pele, por geralmente possuírem testículos mais longos e maior número

de glândulas sudoríparas no escroto, quando comparado com os animais taurinos. Estas características, permitem aos zebuínos uma termorregulação mais eficiente e melhor adaptação aos climas tropicais (Bailey et al., 1996).

Quanto aos mecanismos termorregulatórios vasculares, consistem em troca de calor por contracorrente. O cordão espermático está localizado dorsalmente ao testículo, e é composto por uma complexa rede venosa chamada de plexo pampiniforme, o qual circunda a artéria testicular fortemente enrolada (Cook et al., 1994). O fluxo sanguíneo desses vasos corre em direções opostas, atuando assim como um trocador de calor contracorrente, transferindo calor da artéria para a veia antes de adentrar no testículo (Brito et al., 2004).

Segundo Kastelic et al. (1997), é possível avaliar tanto o gradiente de temperatura escrotal, como o testicular. O escroto é vascularizado de cima para baixo; por outro lado, a artéria testicular percorre o comprimento do testículo até o polo ventral, e então divide-se em numerosos ramos na superfície testicular antes de entrar no parênquima. Desse modo, o escroto e o testículo possuem temperaturas mais quentes na origem do suprimento sanguíneo, e ambos ficam mais frios distalmente. Esses gradientes de temperaturas opostos são complementares, o que mantém a temperatura intratesticular quase uniforme e abaixo da temperatura corporal (Kastelic et al., 2018).

2.2. Avaliação andrológica

Os touros possuem alta quota de responsabilidade nos índices reprodutivos do rebanho, uma vez que um único touro acasala com um grande número de fêmeas. Em estação de monta natural (EMN), predominantemente, a relação touro:vaca é de 1:25 (Fonseca, 2009). No caso de inseminação artificial, a disseminação do material genético do touro é ainda maior, pois um único ejaculado é capaz de fecundar centenas de fêmeas (Luz et al., 2018). Portanto, a avaliação do potencial reprodutivo do touro por meio do exame andrológico é necessária para seleção de animais com padrões reprodutivos morfofuncionais normais, e para descarte de touros sub-férteis (Fonseca et al., 2020).

A fertilidade, é uma característica complexa e para chegar o mais perto possível da predição do potencial de um touro, a utilização de vários testes faz-se necessário (Boe-Hansen e Satake, 2019). A avaliação andrológica por sua vez, compreende várias etapas que vão desde a avaliação clínica, exame do aparelho reprodutor completo e avaliação da qualidade do sêmen (Silva et al., 2015). A avaliação clínica consiste no exame físico do touro, com especial atenção para o sistema locomotor, dada sua importância tanto para caminhar em busca de alimento, como para realização da monta e cópula (Barbosa et al., 2005). Já a genitália externa (prepúcio, pênis, bolsa escrotal, testículos e epidídimos), é avaliada por inspeção e palpação (Palmer, 2016).

O espermiograma pode ser considerado uma das etapas mais minuciosas e criteriosas do exame andrológico. A colheita de sêmen, é prática da com auxílio de vagina artificial ou eletroejaculador (Barbosa et al., 2005). Após a colheita, o sêmen é submetido a diversas análises, sendo turbilhonamento, motilidade, vigor, concentração, e morfologia espermática as principais (Fonseca et al., 2019). Dentre elas, a motilidade espermática é um importante requisito para o processo de fertilização, visto que o espermatozoide precisa ter movimentação ativa no trato reprodutor feminino (Blommaert et al., 2019).

A porcentagem de células móveis em um ejaculado pode ser determinada por inspeção visual humana ou por análise computadorizada. A avaliação microscópica, é uma técnica simples e barata, porém caracterizada por alto grau de subjetividade, e os resultados podem variar em até 60% entre técnicos, devido a diferença de habilidade e treinamento (Verstegen et al., 2002). Entretanto, o sistema de análise computadorizado de sêmen (CASA) é um método de avaliação quantitativa da motilidade espermática, esta, fornece informações não somente sobre a porcentagem de espermatozoides móveis totais e progressivos, mas também gera parâmetros espermáticos individuais (Mortimer et al., 2015; Yeste et al., 2018; Boe-Hansen e Satake, 2019).

Os parâmetros CASA comumente mensurados são: motilidade total (MT, %) que representa a porcentagem de células moveis; motilidade progressiva (MP, %) que é a porcentagem de células com movimento progressivo; velocidade rápida (RAP, %) porcentagem de espermatozoides com velocidade rápida; velocidade de trajeto (VAP,

$\mu\text{m/s}$) corresponde a velocidade média ininterrupta do percurso da célula, em micrometros por segundo; velocidade progressiva (VSL, $\mu\text{m/s}$) representa a velocidade média percorrida em linha reta entre o primeiro e o último ponto da trajetória da célula, em micrometros por segundo; velocidade curvilínea (VCL, $\mu\text{m/s}$) é a velocidade da trajetória real do espermatozoide em micrometros por segundo; amplitude lateral da cabeça (ALH, μm) é a largura média da oscilação da cabeça espermática durante seu deslocamento; frequência de batimentos flagelares (BCF, Hz) frequência com que a cabeça do espermatozoide cruza a direção do movimento; retilinearidade (STR, %) valor médio da proporção entre VSL/VAP x 100 e linearidade (LIN, %) é o valor médio da proporção entre VSL/VCL x 100 (Verstegen et al., 2002; Mortimer et al., 2015). Em estudo realizado por Verstegen et al. (2002) foi observado que os valores de VAP, VSL e VCL foram maiores em amostras que produziram mais de 50% de oócitos fertilizados, comparado com as amostras em que a taxa de fertilização de oócitos foi menor que 50%; e ainda foi observado correlação positiva entre VCL e fecundidade. Embora os parâmetros CASA forneçam informações valiosas sobre o movimento espermático, ainda não há clareza para saber qual ou quais parâmetros podem ser considerados indicadores de fertilidade no macho, o que demonstra a necessidade de mais estudos sobre o assunto.

Outra avaliação usada para identificar fatores de risco na fertilidade de touros, é a morfologia espermática, que estima o percentual de espermatozoides normais e a distribuição dos diferentes defeitos espermáticos na amostra seminal (Pellegrin et al., 2009). Além disso, a porcentagem de espermatozoides morfologicamente normais no ejaculado possui alta repetibilidade e alta herdabilidade (Freneau, 2011; Filho et al., 2020). As anormalidades morfológicas podem acontecer em diferentes fases da vida do espermatozoide, fazendo-se importante associar os conhecimentos de fisiologia e patologia da reprodução para estimar os efeitos da anormalidade na fertilidade do reprodutor, estabelecendo assim diagnóstico e/ou prognóstico para melhoria (Freneau, 2011). Para Palmer (2016), espermatozoides morfologicamente anormais são comuns, e pelo menos alguns são observados em quase todas as avaliações do sêmen, torna-se um problema quando grandes proporções dessas anormalidades são observadas. Os critérios de avaliação para as análises seminais e todas as demais

etapas do exame andrológico são baseadas e seguem as normas do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 2013).

De acordo com Kastelic (2014), os conhecimentos sobre os testículos bovinos são de grande importância. Com o intuito de entender melhor a fisiologia e os mecanismos que controlam as funções testiculares, novas técnicas têm sido adicionadas como complementares ao exame andrológico, nesse sentido destacam-se a termografia infravermelha, por fornecer informações sobre as características térmicas dos reprodutores, e a ultrassonografia sobre a intensidade de pixels do parênquima testicular e do aporte sanguíneo ao testículo (Menegassi et al., 2015; Bourgon et al., 2018; Gloria et al., 2018; Romanello et al., 2018).

2.3. Termografia infravermelha

A termorregulação testicular é responsável por manter a temperatura testicular mais baixa do que a temperatura corporal interna, em torno de 6°C de diferença (Garcia, 2017). Contudo, ambientes com altas temperaturas podem comprometer a eficiência dos mecanismos termorregulatórios e dificultar a dissipação de calor, levando o animal a estresse térmico por calor (Curtis et al., 2017). Em situações de hipertermia, o metabolismo testicular aumenta, e dependendo da duração, pode causar prejuízos a qualidade do sêmen (Ahirwar et al., 2017) e alterações gonodais com diferentes graus de severidade (Garcia, 2017), o que pode induzir a subfertilidade ou até infertilidade (Rizzoto e Kastelic, 2020). Desde a década de 1990, estudos já relatavam pior qualidade seminal em resposta a altas temperaturas (Lunstra e Coulter, 1997). Os ejaculados podem apresentar alterações na concentração espermática, redução da motilidade e número de espermatozoides viáveis, além de maior porcentagem de patologias espermáticas (Kastelic et al., 2001; Menegassi et al., 2015; Ahirwar et al., 2018).

Devido a importância dos mecanismos termorregulatórios na qualidade seminal, a termografia infravermelha (TIV) mostra-se como ferramenta auxiliar ao exame andrológico, e proporciona informações relevantes sobre características térmicas dos reprodutores (Kastelic et al., 2018). A TIV pode ser definida como uma técnica não invasiva de mapeamento térmico, que faz uso de radiação térmica emitida

pelo corpo para determinar a temperatura superficial. A temperatura é predita a distância, e o tempo de medição é muito rápido, sem o uso de contato físico, o que classifica o método como não invasivo, seguro e indolor (Stelletta et al., 2012; Rekant et al., 2016).

Segundo Eddy et al. (2001) o estado fisiológico das células subjacentes pode ser avaliado pela mensuração da temperatura da pele por meio da termografia infravermelha. Nesse sentido, a TIV têm sido empregada em diversas áreas da medicina veterinária, na detecção de mastite (Rekant et al., 2016), diagnóstico indireto para detectar atividade ovariana (Radigonda et al., 2017), diagnóstico de claudicação em equinos (Douthit et al., 2014). Nos estudos sobre o sistema reprodutor do macho, a termografia é usada para avaliar os efeitos das altas temperaturas da superfície escrotal na qualidade seminal dos animais de produção como por exemplo em bovinos (Menegassi et al., 2015; Bourgon et al., 2018; Romanello et al., 2018), pequenos ruminantes (Alves et al., 2016; Kahwage et al., 2018; Moura et al., 2019) e búfalos (Ahirwar et al., 2018; Yadav et al., 2019).

Os termogramas podem ser realizados a qualquer momento do dia, desde que alguns cuidados como a não realização em horário de alimentação e a condição de que o escroto esteja totalmente seco, sejam considerados (Kastelic et al., 1996). Por meio da TIV, é possível a determinação do gradiente de temperatura (GT) escrotal, pela diferença entre a temperatura do polo proximal (TPP) e do polo distal (TPD) do escroto. Segundo Yadav et al. (2019), é um indicativo da capacidade de termorregulação escrotal dos animais. Em estudo sobre os efeitos do GT da superfície escrotal na qualidade do sêmen de búfalo Murrah, foi relatado que os animais com maiores GT apresentaram melhor qualidade do sêmen comparado a animais com menores valores de GT, o que sugere que maiores valores de GT estão relacionados com a melhor qualidade de sêmen produzida (Yadav et al., 2019).

A influência das características climáticas sobre a temperatura testicular e características seminais foram estudadas em touros *Bos taurus indicus* (Ruediger et al., 2016), sendo relatado que a variabilidade climática interfere sobre tais características, uma vez que o aumento da temperatura ambiental resultou em redução da concentração e motilidade espermática. De acordo com Filho et al. (2020), a motilidade espermática é uma característica que possui baixa herdabilidade ($0,07 \pm$

0,08) e sofre grande influência de fatores ambientais. Menegassi et al. (2015), avaliou 17 touros Braford nas diferentes estações, e observaram que o aumento da temperatura ambiental provoca elevação da temperatura testicular, e desencadeia prejuízos a cinética espermática, especialmente no verão. Moura et al. (2019) também descreveu prejuízos morfológicos nos espermatozoides de ovinos da raça Texel, em decorrência das altas temperaturas do verão. Entretanto, mesmo em regiões de clima tropical ou ambientes com elementos meteorológicos capazes de induzir ao estresse térmico, animais que possuem termorregulação eficiente, podem não apresentar prejuízos a qualidade seminal (Kahwage et al., 2018; Romanello et al., 2018).

O uso da TIV tem demonstrado confiabilidade não somente para avaliar a temperatura escrotal dos animais, mas também para prever a temperatura corporal interna (Giro et al., 2019). Estudos anteriores relataram que a temperatura da região ocular mensurada por TIV apresentou correlação positiva com a temperatura retal, além disso, comparada a outras regiões do corpo avaliadas experimentalmente, foi a região que apresentou valores de temperatura mais consistentes e menos variáveis, o que sugere ser a região orbital uma importante área demonstrativa da condição térmica do animal (Schaefer et al., 2004; Hoffmann et al., 2013).

2.4. Índice de Temperatura e Umidade – ITU

As mudanças climáticas associadas ao aumento de temperatura têm gerado cada vez mais preocupações e novos desafios para a produção animal (De Oliveira et al., 2019). O efeito negativo do estresse térmico causado pela temperatura ambiental elevada, é especialmente sentido na reprodução de bovinos, uma vez que, o estresse térmico pode ser considerado um dos principais causadores de subfertilidade no rebanho (Marai et al., 2008; Habeeb et al., 2018).

Para o monitoramento de variáveis climáticas e caracterização de ambientes, são utilizados os índices de conforto térmico. O índice de temperatura e umidade (ITU), é uma medida que representa a temperatura e umidade relativa do ar em um único valor, e é amplamente utilizado para estudar o impacto do estresse térmico nos animais, e definir zonas de conforto térmico (Nienaber e Hahn, 2007; Malama et al., 2017; Llamas-Luceño et al., 2020).

Estudos têm relatado influência do ITU nas temperaturas testiculares mensuradas por TIV e conseqüentemente, seus reflexos na espermatogênese (Menegassi et al., 2015; Barros et al., 2016; Romanello et al., 2018). Portanto, a tolerância ao calor em bovinos tem sido cada vez mais utilizada como ferramenta de seleção para regiões de clima tropical e subtropical (De Oliveira et al., 2019).

Existem escalas que categorizam os níveis de estresse térmico para bovinos, como por exemplo, normal (ITU < 74), alerta (74 ITU < 79), perigo (79 ITU < 84), e emergência (ITU ≥ 84) (Baeta, 1986; Nienaber e Hahn, 2007). Entretanto, alguns estudos relataram que mesmo com o ITU dentro das faixas de perigo ou emergência para estresse térmico, os animais não apresentaram prejuízos ou patologia das células espermáticas (Menegassi et al., 2015; Romanello et al., 2018).

2.5. Ultrassonografia testicular

Amplamente difundida nas práticas veterinárias, a ultrassonografia (US) é uma ferramenta diagnóstica que proporciona informações de forma rápida e não invasiva de regiões anatômicas, tanto em processos fisiológicos como patológicos (Griffin e Ginther, 1992). Para Kastelic et al. (2012) a US tem grande aplicabilidade no manejo reprodutivo de bovinos, no entanto, as fêmeas por apresentarem um sistema reprodutor com maior complexidade do que os machos recebem maior atenção em pesquisas científicas, e aplicabilidade da técnica a campo.

A imagem ultrassonográfica em modo B, é composta por um conjunto de pixels que são exibidos em escala de cinza, que variam de 0 (anecoico, preto absoluto) a 255 (hiperecoico, branco absoluto) (Giffin et al., 2009). As análises de ultrassonografia assistida por computador são uma maneira precisa de quantificar a intensidade dos pixels (Pierson e Adams, 1995). A metodologia desenvolvida por Ahmadi et al. (2013) é usada até hoje para avaliar o parênquima testicular (Rodrigues et al., 2020) sendo que, o valor médio do pixel (ecogenicidade) a heterogeneidade do pixel (desvio padrão do valor médio do pixel) e a intensidade mínima e máxima do pixel são obtidos em regiões circulares distribuídas pelo parênquima.

Segundo Rodrigues et al. (2020) a ultrassonografia é uma técnica eficaz para avaliar todos os órgãos reprodutores do macho. O testículo apresenta-se geralmente

com parênquima homogêneo e hipocogênico. Enquanto o mediastino é hiperecogênico, com aproximadamente 2-4mm de largura no plano longitudinal e no plano transversal se mostra como um ponto hiperecoico no centro do testículo (Kastelic e Brito, 2012; Rodrigues et al., 2020).

A US testicular pode ser utilizada para identificar alterações no parênquima e caracterizar patologias, porém é recomendado que seja usada como técnica complementar ao andrológico na busca para predição de fertilidade (Gnemmi e Lefebvre, 2009). Kastelic et al. (2018) apontaram que o método tem utilidade limitada, contudo avanços futuros na análise computadorizada das imagens em modo-B ou o emprego do modo Doppler aumentem o uso da ultrassonografia na avaliação andrológica dos touros.

Os testículos requerem um suprimento sanguíneo adequado para as demandas metabólicas da espermatogênese e esteroidogênese, e alterações vasculares podem prejudicar significativamente a produção de espermatozoides e consequente qualidade do sêmen (Hopper, 2015). A ultrassonografia Doppler se caracteriza como método eficaz e não invasivo de avaliar o sistema vascular dos órgãos reprodutivos em touros (Gloria et al., 2018; Junior et al., 2018; Rodrigues et al., 2020). Os principais parâmetros que podem ser gerados através da ultrassonografia Doppler são velocidade do pico sistólico (VPS), velocidade do pico diastólico (VPD), velocidade média (VM) do fluxo sanguíneo, índice de pulsatilidade (IP) e índice de resistência vascular (IR) (Wood et al., 2010).

Estudos relataram a existência de correlações negativas entre VM do fluxo sanguíneo e IP e IR, ou seja, tecidos que necessitam de menor fluxo sanguíneo possuem maiores valores de IP e IR (Junior et al., 2018; Fávares et al., 2020). Além disso, os vasos do plexo pampiniforme são sinuosos e de pequeno calibre, o que também implica altos valores de IP e IR (Chavhan et al., 2008). Touros de diferentes raças apresentam diversidade na dinâmica do fluxo sanguíneo na artéria testicular, o que pode estar relacionadas a conformidade anatômica dos animais *Bos indicus* e *Bos taurus*, sendo que os animais *Bos indicus* possuem características vasculares e não vasculares que permitem melhor termorregulação, e assim requerem menor fluxo sanguíneo (Brito et al., 2004; Junior et al., 2018; Claus et al., 2019; Rodrigues et al., 2020).

Na avaliação do aporte sanguíneo aos testículos por meio da técnica Doppler, estudos recentes têm relatado correlações entre os índices vasculares e qualidade do sêmen e fertilidade nos machos (Gloria et al., 2020). Gloria et al. (2018) estudando as associações dos parâmetros Doppler e as características espermáticas de touros Swiss Brown, relataram correlações negativas entre o IR e a porcentagem de espermatozoides morfologicamente normais no ejaculado. Resultados semelhantes também foram descritos em outras espécies como garanhões (Ortiz-Rodriguez et al., 2017) e cães (Gloria et al., 2020).

REFERÊNCIAS

Ahirwar MK, Kataktaaware MA, Ramesha KP, Pushpadass, Jeyakumar S, Revanasiddu D, Kour RJ, Nath S, Nagaleekar AK, Nazar S (2017) Influence of season, age and management on scrotal thermal profile in Murrah bulls using scrotal infrared digital thermography. **International Journal of Biometeorology** 61:2119–2125.

Ahirwar MK, Kataktaaware MA, Pushpadass HA, Jayakumar S, Jash S, Nazar S, Devi G L, Kastelic JP, Ramesha KP (2018) Scrotal infrared digital thermography predicts effects of thermal stress on buffalo (*Bubalus bubalis*) semen. **Journal of Thermal Biology** 78:51–57.

Ahmadi B, Mirshahi A, Giffin J, Oliveira MEF, Gao L, Hahnel A, Bartlewski PM (2013) Preliminary assessment of the quantitative relationships between testicular tissue composition and ultrasonographic image attributes in the ram. **Veterinary Journal** 198:282–285.

Alves MBR et al. (2016) Recovery of normal testicular temperature after scrotal heat stress in rams assessed by infrared thermography and its effects on seminal characteristics and testosterone blood serum concentration. **Theriogenology** 86:795-805.

Baeta FCDA (1986) **Responses of lactating dairy cows to the combined effects of temperature, humidity and wind velocity in the warm season**. Tese (Doutorado em Agricultural Engineering-Structures and Environment) - Univ. of Missouri, Columbia.

Bailey TL, Monke D, Hudson RS, Wolfe DF, Carson RL, Riddell MG (1996) Testicular shape and its relationship to sperm production in mature Holstein bulls. **Theriogenology** 46:881–887.

Barbosa RT, Machado R, Bergamaschi MACM (2005) **A importância do exame andrológico em bovinos**. São Carlos: Circular Técnica - Embrapa, 13 p.

Barros DV, Silva LKX, Kahwage PR, Lourenço Junior JB, Sousa JS, Silva AGM, Franco IM, Martorano LG, Garcia AR (2016) Assessment of surface temperatures of buffalo bulls. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. 68:422–430.

Berry DP, Evans RD, Mc Parland S (2011) Evaluation of bull fertility in dairy and beef cattle using cow field data. **Theriogenology** 75:172–181.

Blommaert D, Sergeant N, Delehedde M, Jouy N, Mitchell V, Franck T, Donny I, Lejeune JP, Serteyn D (2019) Expression, localization, and concentration of A-kinase anchor protein 4 (AKAP4) and its precursor (proAKAP4) in equine semen: Promising marker correlated to the total and progressive motility in thawed spermatozoa. **Theriogenology** 131:52–60.

Boe-Hansen GB, Satake N (2019) An update on boar semen assessments by flow cytometry and CASA. **Theriogenology** 137:93–103.

Bourgon SL, Amorim MD, Chenier T, Sargolzaei M, Miller SP, Martell JE, Montanholi YR (2018) Relationships of nutritional plane and feed efficiency with sexual development and fertility related measures in young beef bulls. **Animal Reproduction Science** 198:99–111.

Brito LFC, Silva AEDF, Barbosa RT, Kastelic JP (2004) Testicular thermoregulation in *Bos indicus*, crossbred and *Bos taurus* bulls: Relationship with scrotal, testicular vascular cone and testicular morphology, and effects on semen quality and sperm production. **Theriogenology** 61:511–528.

Chavhan GB, Parra DA, Mann A, Navarro OM (2008) Normal Doppler Spectral Waveforms of Major Pediatric Vessels: Specific Patterns. **RadioGraphics** 28:691-706.

Claus LAM, Junior FAB, Junior CK, Pereira GR, Fávares PC, Galdioli VHG, Seneda MM, Ribeiro ELA (2019) Scrotal skin thickness, testicular shape and vascular perfusion using Doppler ultrasonography in bulls. **Livestock Science** 226:61–65.

Cook RB, Coulter GH, Kastelic JP (1994) The testicular vascular cone, scrotal thermoregulation, and their relationship to sperm production and seminal quality in beef bulls. **Theriogenology** 41:653–671.

Curtis AK, Scharf B, Eichen PA, Spiers DE (2017) Relationships between ambient conditions, thermal status, and feed intake of cattle during summer heat stress with access to shade. **Journal of Thermal Biology** 63:104–111.

De Oliveira CC, Alves FV, Martins PGMA, Junior NK, Alves GF, Almeida RG, Mastelaro AP, Silva EVC (2019) Vaginal temperature as indicative of thermoregulatory response in Nelore heifers under different microclimatic conditions. **Plos One** 14:1-13.

Douthit TL, Bormann JM, Bello NM (2014) Assessing the association between hoof thermography and hoof doppler ultrasonography for the diagnosis of lameness in horses. **Journal of Equine Veterinary Science** 34:275–280.

Eddy AL, Van Hoogmoed LM, Snyder JR (2001) The role of thermography in the management of equine lameness. **Veterinary Journal** 162:172–181.

Fávoro PDAC, Pereria GR, Junior FAB, Adona PR, Franco EMV, Dias IS, Seneda MM, Junior CK (2020) Hemodynamic evaluation of the suprastesticular artery in bulls. **Livestock Science** 241:104-210.

Filho IC, Marque DBD, Campos CF de, Guimarães JD, Guimarães SEF, Lopes PS, Silva FF, Veroneze R (2020) Genetic parameters for fertility traits in Nelore bulls. **Reproduction in Domestic Animals** 55:38–43.

Fonseca VO (2009) Avaliação Reprodutiva de Touros Para Monta a Campo: Análise Crítica. **Revista Brasileira de Reprodução Animal** 6:36–41.

Fonseca VO, Franco CS, Azevedo NA, Oliveira LZ, Monteiro GA, Cavalcanti LFL, Molina LR (2020) Potencial reprodutivo (PR) de touros Nelore avaliados por parâmetros andrológicos e comportamento sexual. Classificação por pontos: nova proposição. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** 72:1102-1112.

Fonseca VO, Souza CF, Azevedo NA, Oliveira LZ, Monteiro GA, Cavalcanti LFL, Molina LR (2019) Parâmetros reprodutivos de touros Nelore (*Bos taurus indicus*) criados a pasto, em diferentes faixas etárias. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** 71:385-392.

Freneau G (2011) Aspectos Da Morfologia Espermiática Em Touros. **Revista Brasileira de Reprodução Animal** 35:160–70.

Garcia A (2017) Degeneração Testicular: Um Problema Superado Ou Ainda Um Dilema?. **Revista Brasileira de Reprodução Animal** 41:33–39.

Giffin JL, Franks SE, Rodriguez-Sosa JR, Hahnel A, Bartlewski PM (2009) A Study of Morphological and Haemodynamic Determinants of Testicular Echotexture Characteristics in the Ram. **Experimental Biology and Medicine** 234:794–801.

Giro A, Bernardi ACC, Barioni Junior B, Lemes AP, Botta D, Romanello N, Barreto AN, Garcia AR (2019) Application of Microchip and Infrared Thermography for Monitoring Body Temperature of Beef Cattle Kept on Pasture. **Journal of Thermal Biology** 84:121–28.

Gloria A, Carluccio A, Wegher L, Robbe D, Valorz C, Contri A (2018) Pulse Wave Doppler Ultrasound of Testicular Arteries and Their Relationship with Semen Characteristics in Healthy Bulls. **Journal of Animal Science and Biotechnology** 9:1-7.

Gloria A, Francesco LDF, Marruchella GM, Robbe D, Contri A (2020) Pulse-Wave Doppler Pulsatility and Resistive Indexes of the Testicular Artery Increase in Canine Testis with Abnormal Spermatogenesis. **Theriogenology** 158:454–60.

Gnemmi G, Lefebvre RC (2009) Ultrasound Imaging of the Bull Reproductive Tract: An Important Field of Expertise for Veterinarians. **Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice** 25:767–79.

Griffin PG, Ginther J (1992) Research Applications of Ultrasonic Imaging in Reproductive Biology. **Journal of Animal Science** 70:953–72.

Habeeb AA, Gad AE, Atta MA (2018) Temperature-Humidity Indices as Indicators to Heat Stress of Climatic Conditions with Relation to Production and Reproduction of Farm Animals. **International Journal of Biotechnology and Recent Advances** 1:35–50.

Hoffmann G, Schmidt M, Ammon C, Rose-Meierhöfer S, Burfeind O, Heuwieser W, Berg W (2013) Monitoring the Body Temperature of Cows and Calves Using Video Recordings from an Infrared Thermography Camera. **Veterinary Research Communications** 37:91–99.

Hopper RM. 2015. **Bovine Reproduction**. Oxford: Wiley Blackwell. 800p.

Junior FAB, Junior CKJ, Fávares PC, Pereira GR, Morotti F, Menegassi SRO, Barcellos JOJ, Seneda MM (2018) Effect of Breed on Testicular Blood Flow Dynamics in Bulls. **Theriogenology** 118:16–21.

Kahwage PR, Esteves SN, Jacinto MAC, Junior WB, Machado R, Romanello N, Passeri LF, Mendonça KL, Garcia AR (2018) Assessment of body and scrotal thermoregulation and semen quality of hair sheep rams throughout the year in a tropical environment. **Small Ruminant Research** 160: 72–80.

Kastelic JP, Cook RB, Coulter GH, Wallins GL, Entz T (1996) Environmental factors affecting measurement of bovine scrotal surface temperature with infrared thermography. **Animal Reproduction Science** 41:153–159.

Kastelic JP, Cook RB, Pierson RA, Coulter GH (2001) Relationships among scrotal and testicular characteristics, sperm production, and seminal quality in 129 beef bulls. **The Canadian journal of veterinary research** 65:111–115.

Kastelic JP (2014) Understanding and evaluating bovine testes. **Theriogenology** 81:18–23.

Kastelic JP, Brito LFC (2012) Ultrasonography for Monitoring Reproductive Function in the Bull. **Reproduction in Domestic Animals** 47:45–51.

Kastelic JP, Cook RB, Coulter GH (1997) Contribution of the scrotum, testes, and testicular artery to scrotal/testicular thermoregulation in bulls at two ambient temperatures. **Animal Reproduction Science** 45:225–261.

Kastelic JP, Rizzoto G, Thundathil J (2018) Review: Testicular vascular cone development and its association with scrotal thermoregulation, semen quality and sperm production in bulls. **Animal** 12:133–141.

Llamas-Luceño N, Hostens M, Mullaart E, Broekhuijse M, Lonergan P, Soom AV (2020) High temperature-humidity index compromises sperm quality and fertility of Holstein bulls in temperate climates. **Journal of Dairy Science** 103:9502–9514.

Lunstra DD, Coulter GH (1997) Relationship Between Scrotal Infrared Temperature Patterns and Natural-Mating Fertility in Beef Bulls. **Journal Animal Science**. 75:767–774.

Luz JB, Sampaio LRO, Crespilho AM, Gomes DI, Andrade MA, Vieira JIT, Chaves MS, Basto SRL, Alves KS (2018) The use of açai as a potential antioxidant for bovine semen cryopreservation. **Medicina Veterinária (UFRPE)** 12:143–153.

Malama E, Zeron Y, Janett F, Siuda M, Roth Z, Bollwein H (2017) Use of computer-assisted sperm analysis and flow cytometry to detect seasonal variations of bovine semen quality. **Theriogenology** 87:79–90.

Marai IFM, El-Darawany AA, Fadiel A, Abdel-Hafez MAM (2008) Reproductive Performance Traits as Affected by Heat Stress and Its Alleviation in Sheep. **Tropical and Subtropical Agroecosystems** 8:209–234.

Menegassi SRO, Barcellos JOJ, Dias EA, Koetz Jr C, Pereira GR, Peripolli V, McManus C, Canozzi MEA, Lopes FG (2015) Scrotal infrared digital thermography as a predictor of seasonal effects on sperm traits in Braford bulls. **International Journal of Biometeorology** 59:357–364.

Mortimer ST, Van Der Horst G, Mortimer D (2015) The future of computer-aided sperm analysis. **Asian Journal of Andrology** 17:545–553.

Moura ABB et al. (2019) Differences in the thermal sensitivity and seminal quality of distinct ovine genotypes raised in tropical conditions. **Theriogenology** 123:123–131.

Nienaber JA, Hahn GL (2007) Livestock production system management responses to thermal challenges. **International Journal of Biometeorology** 52:149–157.

Ortiz-Rodriguez JM, Anel-Lopes L, Martín-Munoz P, Álvarez M, Gaitskell-Phillips, Anel L, Rodríguez-Medina P, Pena FJ, Ferrusola CO (2017) Pulse Doppler ultrasound as a tool for the diagnosis of chronic testicular dysfunction in stallions. **Plos One** 12:1–21.

Palmer CW (2016) Management and Breeding Soundness of Mature Bulls. **Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice** 32:479–495.

Pellegrin AO et al. (2009): **Fertilidade, Funcionalidade e Genética de Touros Zebuínos**. Corumbá: Embrapa, 211p.

Pierson RA, Adams GP (1995) Computer-Assisted Image Analysis, Diagnostic Ultrasonography and Ovulation Induction: Strange Bedfellows. **Theriogenology** 43:105–112.

Radigonda VL, Pereira GR, Fávaro PC, Junior FAB, Borges MHF, Galdioli VHG, Junior CK (2017) Infrared thermography relationship between the temperature of the vulvar skin, ovarian activity, and pregnancy rates in Braford cows. **Tropical Animal Health and Production** 49:1787–1791.

Rekant SI, Lyons MA, Pacheco JM, Arzt JA, Rodriguez LL (2016) Veterinary applications of infrared thermography. **American Journal of Veterinary Research** 77:98–107.

Rizzoto G, Kastelic JP (2020) A new paradigm regarding testicular thermoregulation in ruminants? **Theriogenology** 147:166–175.

Rodrigues NN et al. (2020) Ultrasonographic characteristics of the testes, epididymis and accessory sex glands and arterial spectral indices in peri- and post-pubertal Nelore and Caracu bulls. **Animal Reproduction Science** 212:106235.

Romanello N, et al. (2018) Thermoregulatory responses and reproductive traits in composite beef bulls raised in a tropical climate. **International journal of biometeorology** 62:1575-1586.

Ruediger, FR, Chacur MGM, Alves FCPE, Oba E, Ramos AA (2016) Termografia digital por infravermelho do escroto, qualidade do sêmen, níveis séricos de testosterona em touros Nelore (*Bos taurus indicus*) e suas correlações com os fatores climáticos. **Semina: Ciências Agrárias** 37:221.

Schaefer AL, Cook N, Tessaro SV, Deregt D, Desroches G, Dubeski PL, Tong AKW, Godson DL (2004) Early detection and prediction of infection using infrared thermography. **Canadian Journal of Animal Science** 84:73–80.

Silva EVC, Costa Filho, LCC, Souza CC; Oliveira CC, Queiroz VLD, Zúccari CESN (2015) Seleção de touros para reprodução a campo: novas perspectivas Bull selection for natural breeding: new perspectives. **Revista Brasileira de Reprodução Animal** 39:22–31.

Stelletta C, Giancesella M, Vencato J, Fiore E, Morgante M (2012) Thermographic applications in veterinary medicine. **Infrared Thermography**. China: In Tech, 117-140.

Verstegen J, Iguer-Ouada M, Onclin K (2002) Computer assisted semen analyzers in andrology research and veterinary practice. **Theriogenology** 57:149–79.

Wood MM, Romine LE, Lee YK, Richman KM, O'Boyle MK, Paz DA, Chu PK, Pretorius DH (2010) Spectral Doppler Signature Waveforms in Ultrasonography: A Review of Normal and Abnormal Waveforms. **Ultrasound Quarterly** 26:83–99.

Yadav SK, Singh P, Kumar P, Singh SV, Singh A, Kumar Sunil (2019) Scrotal infrared thermography and testicular biometry: Indicator of semen quality in Murrah buffalo bulls. **Animal Reproduction Science** 209:106145.

Yeste M, Bonet S, Rodríguez-Gil JE, Del Álamo MMR (2018) Evaluation of sperm motility with CASA-Mot: Which factors may influence our measurements?. **Reproduction, Fertility and Development** 30:789–98.

CAPÍTULO 2 - Parâmetros reprodutivos em touros Nelore criados em região de clima tropical semiúmido: ferramentas auxiliares para a escolha do reprodutor

RESUMO: O presente estudo teve como objetivos monitorar as características reprodutivas de touros Nelore antes e após a estação de monta natural (EMN) em regiões de clima tropical semiúmido, e ainda, avaliar se as técnicas de termografia infravermelha (TIV), ultrassonografia testicular modo-B e modo Doppler, e análise computadorizada do movimento espermático (CASA) podem fornecer indicadores de fertilidade em touros Nelore submetidos EMN. Foram realizadas três avaliações antes dos animais entrarem na EMN e três avaliações após a saída da EMN (intervalos de 28 dias entre as avaliações), em duas EMN consecutivas. Em todas as avaliações, foi realizada mensuração do índice de temperatura e umidade (ITU), termografia infravermelha (TIV) da região escrotal e ocular, ultrassonografia testicular e colheita e avaliação seminal. Os touros foram classificados em três grupos de fertilidade conforme a taxa de prenhez ao final da EMN: baixa fertilidade (BF; taxa de prenhez de $66,57 \pm 0,62\%$), média fertilidade (MF; taxa de prenhez de $76,47 \pm 0,51\%$) e alta fertilidade (AF; taxa de prenhez de $84,80 \pm 0,60\%$). Não foi observado diferença nos parâmetros fornecidos pela TIV entre os grupos de fertilidade. Os animais do grupo AF apresentaram parâmetros de velocidade média do trajeto (VAP), velocidade em linha reta (VSL) e índices de pulsatilidade (IP) e resistência (IR) superiores (VAP = $110,98 \mu\text{m/s}$; VSL = $87,05 \mu\text{m/s}$; IP = 0,93; IR = 0,57), comparados ao grupo BF (VAP = $100,02 \mu\text{m/s}$; VSL = $79,84 \mu\text{m/s}$; IP = 0,69; IR = 0,48). Com base nas avaliações antes e após a EMN é possível concluir que, a utilização de touros Nelore em EMN em regiões de clima tropical semiúmido, é viável por não apresentar reflexos negativos nas características reprodutivas. E ainda que, a TIV não é capaz de fornecer indicadores de fertilidade para touros Nelore. No entanto, VAP e VSL fornecidos pela técnica CASA e IP e IR fornecidos por ultrassonografia Doppler podem ser considerados indicadores de fertilidade.

Palavras-chave: Bovino, fertilidade, sêmen, CASA, termografia infravermelha, ultrassonografia doppler

1. INTRODUÇÃO

Mesmo com o avanço no uso das biotécnicas aplicadas a reprodução, ainda nos dias de hoje, a grande maioria das propriedades utilizam como principal manejo reprodutivo a monta natural (Costa e Silva et al., 2015). Na pecuária nacional o período em que se concentram os acasalamentos do rebanho bovino ocorre durante os meses mais quentes do ano em regiões de clima tropical e subtropical, o que exige uma seleção de reprodutores adaptados ao ambiente climático a que serão expostos (Romanello et al., 2018; Claus et al., 2019).

A avaliação e seleção dos reprodutores devem acontecer na pré-estação, com o intuito de eliminar tanto animais que apresentem características indesejáveis quanto animais inférteis ou subférteis (Fonseca et al., 2019). Nesse sentido, existem hoje algumas análises consideradas indispensáveis ao andrológico e algumas mais recentes que são auxiliares na tentativa de predizer o potencial reprodutivo dos touros (Costa e Silva et al., 2015).

As análises de motilidade e morfologia espermática têm sido apontadas como fatores decisivos na avaliação e seleção de um ejaculado, sendo o movimento dos espermatozoides moveis o teste mais utilizado para verificar a qualidade do sêmen (Boe-Hansen e Satake, 2019). A técnica tradicional verifica de forma subjetiva o parâmetro de motilidade espermática, contudo existem estudos relatando variação de 30 a 60% entre técnicos, sendo a principal dificuldade quantificar as diferentes subpopulações espermáticas no ejaculado avaliado (Verstegen et al., 2002). A análise computadorizada do movimento espermático (CASA) é uma técnica objetiva e mais confiável que permite a identificação de subpopulações espermáticas com base em suas características de movimento (Yeste et al., 2018; Fair e Romero-Aguirregomez, 2019). Entretanto, ainda não se sabe com clareza qual ou quais parâmetros fornecidos pela técnica CASA podem contribuir para melhor inferência do potencial reprodutivo do sêmen.

Na andrologia bovina, a termografia infravermelha (TIV) e a ultrassonografia testicular tornaram-se importantes ferramentas auxiliares (Kastelic, 2014; Kastelic et al., 2018). A TIV tem sido implementada em diversos estudos, usada para mensurar a temperatura superficial do escroto e relacioná-la com a termorregulação e com o

temperamento dos touros (Braz et al., 2020) e ainda, estudo têm avaliado o efeito das condições ambientais sobre as temperaturas escrotais determinadas por TIV, e seus reflexos na qualidade seminal dos reprodutores (Menegassi et al., 2015; Romanello et al., 2018; Moura et al., 2019).

Em contrapartida, a ultrassonografia em modo-B tem sido utilizada para avaliar a integridade do parênquima testicular, a qual permite identificar alterações e caracterizar patologias (Gnemmi e Lefebvre, 2009; Rodrigues et al., 2020). Além disso, o aporte sanguíneo aos testículos tem sido avaliado por parâmetros da ultrassonografia Doppler. Estudos têm correlacionado os parâmetros Doppler da artéria testicular com parâmetros de qualidade espermática, uma vez que alterações no fluxo sanguíneo testicular podem provocar prejuízos à espermatogênese (Ortiz-Rodriguez et al., 2017; Gloria et al., 2018; 2020).

Apesar dos estudos existentes, deve-se destacar que ainda não se sabe com certeza se as técnicas de TIV e a ultrassonografia testicular fornecem parâmetros eficientes como indicativos de fertilidade em machos, e esse conhecimento pode contribuir de maneira benéfica para melhor seleção de reprodutores bovinos. Diante disso, os objetivos do presente estudo foram: monitorar características reprodutivas de touros Nelore antes e após a estação de monta natural (EMN) em regiões de clima tropical semiúmido, e ainda, avaliar se as técnicas de termografia infravermelha, ultrassonografia testicular modo-B e modo Doppler, e análise computadorizada do movimento espermático podem fornecer indicadores de fertilidade em touros Nelore submetidos EMN.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos com animais durante este estudo foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto de Zootecnia (Protocolo nº 289-19, CEUA/IZ).

2.1. Local, período de execução e animais

O experimento foi conduzido na região sudeste do Brasil, situada a 21°10' de latitude sul e 48°5' de longitude oeste. Foram realizadas duas replicatas, a primeira de setembro de 2018 a maio de 2019, e a segunda de setembro de 2019 a abril de 2020.

Foram utilizados 29 touros Nelore (*Bos indicus*), com idade entre 30 ± 6 meses, e peso corporal inicial de 546 ± 79 kg e final 656 ± 74. Do total de touros, 14 foram avaliados na primeira réplica e 15 touros na segunda réplica. Os animais foram mantidos em sistema de piquetes rotacionados conforme a disponibilidade de forragem, com pastagem composta por gramíneas do gênero *Brachiaria*, com suplementação de sal mineral e fornecimento de água *ad libitum*.

2.2. Delineamento experimental

As avaliações foram realizadas dois meses antes e dois meses após a EMN, da seguinte forma: três avaliações (setembro, outubro e novembro) com intervalo de 28 dias entre elas, antes dos animais entrarem na EMN; três avaliações após a saída da EMN (março, abril e maio), com o mesmo período de intervalo entre elas. A EMN teve duração de 90 dias (meados de novembro a meados de fevereiro, em ambas as réplicas)(Figura1).

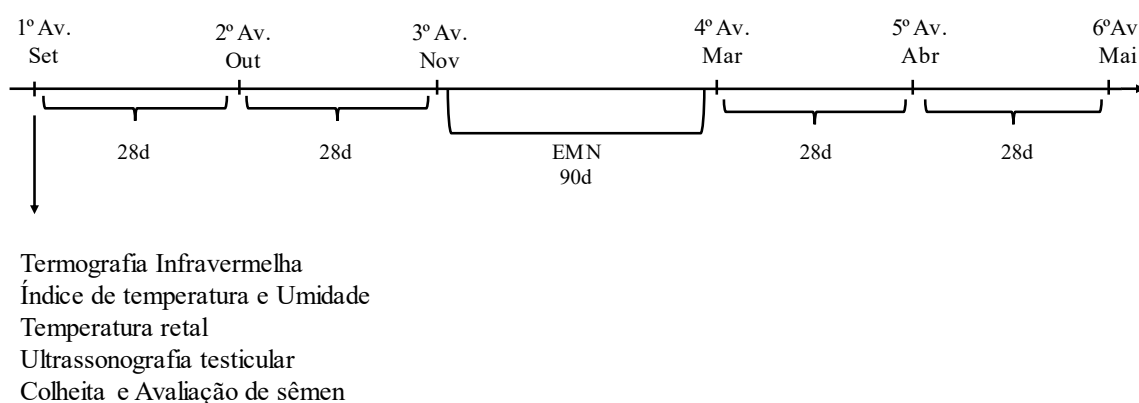


Figura 1. Delineamento experimental. A primeira avaliação foi realizada em setembro, a segunda em outubro, a terceira em novembro, a quarta em março, a quinta em abril e a sexta em maio. Em todas as avaliações foram realizadas mensurações de TIV, de temperatura e umidade do ar, temperatura retal, ultrassonografia testicular e colheita e avaliação de seminal.

A coleta de dados foi realizada em dois dias consecutivos sendo no primeiro dia as variáveis de termografia infravermelha, temperatura retal e ultrassonografia testicular. A análise do sêmen fresco foi realizada no segundo dia de avaliação. No primeiro dia de avaliação os animais eram conduzidos ao curral no início da manhã e aguardavam cerca de 15 minutos antes do início das avaliações. Em seguida, cada animal era contido em tronco próprio, protegido da radiação solar direta e da chuva e, imediatamente avaliado, de acordo com a metodologia proposta por Romanello et al. (2018).

2.3. Índice de temperatura e umidade – ITU

Os dados de temperatura e umidade relativa do ar foram registrados por um *datalogger* (AK174, AKSO®), alocado no curral de coleta, para determinação do ITU referente ao primeiro dia de avaliação de cada mês. Já para o cálculo do ITU referente a todo período experimental, os dados meteorológicos foram coletados na estação meteorológica automática do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET, 2020), situada à 21°21'34" de latitude sul, 48°03'56" de longitude oeste e 538 metros de altitude. Para o cálculo foi utilizada a fórmula proposta por Thom (1959):

$$ITU = \{0,8 \times T + (\%UR/100) \times (T - 14,4) + 46,4\}$$

Sendo que: T é a temperatura (°C) e %UR é a umidade relativa do ar, em porcentagem.

A interpretação do ITU foi baseada na escala usada para categorizar os níveis de estresse térmico para bovinos: normal (ITU < 74), alerta (74 ITU < 79), perigo (79 ITU < 84), e emergência (ITU ≥ 84) (Baeta, 1986; Nienaber e Hahn, 2007).

2.4. Termografia Infravermelha

As temperaturas superficiais das regiões escrotal e ocular foram avaliadas por TIV, com o uso de câmera termográfica portátil (FLIR T420, FLIR Systems Inc., EUA). Durante o experimento, foi adotado emissividade (0,98) e distância (1m), e todas as imagens foram registradas por um único técnico para evitar viés nas medições.

Para cada touro, a temperatura da superfície escrotal foi mensurada a 1 metro de distância e com a câmera orientada perpendicularmente ao escroto. Os termogramas foram analisados pelo Software Researcher IR 4 (FLIR Systems Inc., EUA), com o uso de duas linhas traçadas de um lado a outro na imagem do escroto, para mensurar a temperatura do polo proximal (TPP), e do polo distal (TPD) do escroto (Menegassi et al., 2015) (Figura 2A). A partir disto, o gradiente de temperatura (GT) foi calculado pela diferença entre TPP e TPD. Para avaliar o estado térmico do touro, uma imagem da região ocular na lateral esquerda a 1 metro da cabeça dos animais foi registrada e, posteriormente, analisada por meio do Software Research IR 4, com o contorno do globo ocular com uma elipse, e a região da carúncula lacrimal com um triângulo (Vicentini et al., 2020). Em seguida, foi realizado uma média da temperatura dessas regiões (Figura 2B). A região ocular, é escolhida por sua sensibilidade as mudanças no fluxo sanguíneo de acordo com o estado fisiológico do animal (Hoffmann et al., 2013).

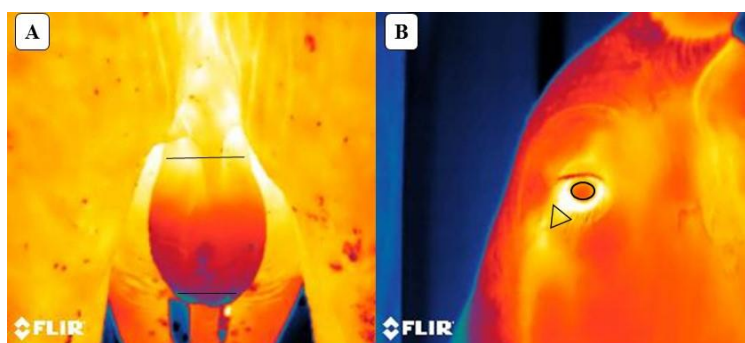


Figura 2. Imagens termográficas e desenho das regiões específicas analisadas quanto à temperatura. A: escroto, temperatura mensura de uma ponta a outra da imagem do escroto; B: região ocular, elipse no globo ocular e triângulo na carúncula lacrimal, temperatura da região escrotal determinada pela média da temperatura nas duas regiões.

2.5. Avaliação ultrassonográfica dos testículos

As avaliações ultrassonográficas em modo-B, Doppler colorido e Doppler espectral foram realizadas com o uso de equipamento ultrassonográfico portátil (Mindray Z5®, Shenzhen, China) acoplado a um transdutor linear na frequência de 7,5 MHz. A ultrassonografia dos testículos, e parâmetros vasculares das artérias testiculares foram realizados por via transcutânea no escroto e região do cordão

espermático, respectivamente. As imagens em modo-B foram analisadas com auxílio do *software* Image Pro Plus 7.0TM (Media Cybernetics Inc., San Diego, CA, USA), com valores numéricos de pixel em escala de cinza de 0 (preto absoluto) a 255 (branco absoluto). Foram obtidos os valores médios de pixel (ecogenicidade), heterogeneidade do pixel (desvio padrão do valor médio do pixel), e valores de intensidade de pixel mínimo e máximo em regiões circulares de interesse distribuídas pelo parênquima dos testículos (Figura 3), de acordo com a metodologia descrita por Ahmadi et al. (2013).

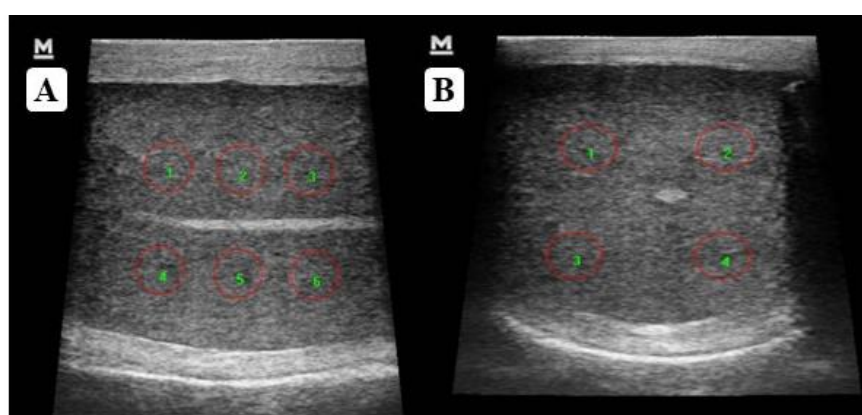


Figura 3. Análise de intensidade de pixel no parênquima testicular. A: Plano longitudinal do testículo. B: Plano transversal do testículo. Os círculos representam as áreas do parênquima testicular que foram analisadas.

O modo-Doppler foi usado para determinar a média do diâmetro da artéria testicular na região do cordão espermático, e o modo-Doppler espectral para determinar o índice de pulsatilidade (IP), índice de resistência (IR), velocidade do pico sistólico (VPS) e velocidade do pico diastólico (VPD) das artérias testiculares (Figura 4). O caliper foi posicionado na área central do lúmen dos vasos, de forma a abranger no mínimo 2/3 do diâmetro dos mesmos, e o ângulo de insonação foi $<60^\circ$, definindo-se o traçado da curva espectral do fluxo sanguíneo e em seguida, os índices vasculares. A média dos parâmetros vasculares da artéria testicular esquerda e direita foi calculada.

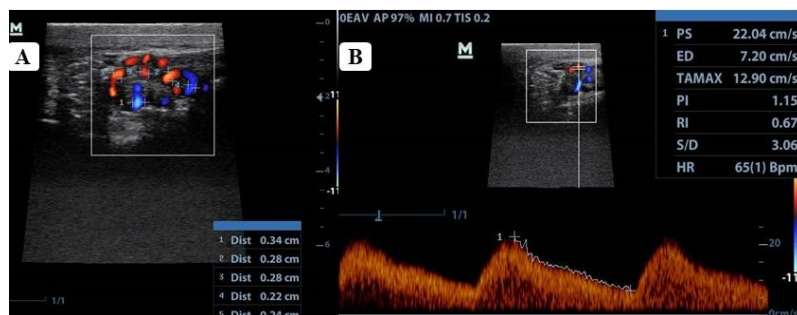


Figura 4. Análise vascular no plexo pampiniforme. A: Diâmetro da artéria testicular. B: fluxo sanguíneo.

2.6. Colheita e avaliação do sêmen

As colheitas de sêmen foram realizadas com os touros mantidos em tronco de contenção e com auxílio de eletroejaculador (Autojac®, Neovet®, Uberaba, Minas Gerais, Brasil). A cinética espermática do sêmen fresco foi determinada por meio do sistema de análise computadorizada do movimento espermático (CASA; Hamilton Thorne Research, IVOS-14, EUA). Para tanto, 10 μ L da amostra do sêmen foi depositada em câmara de Makler (Makler Counting ChamberR, Sefi-Medical Instruments Ltda®, Haifa, Israel) previamente aquecida a 38°C e inserida no analisador IVOS (versão 14, Hamilton-horne Bioscience®, Beverly, MA, EUA). A configuração foi ajustada para a análise de sêmen bovino (número de quadros: 30; contraste mínimo: 60 pixels; tamanho mínimo da célula: 6 pixels; retidão: 70%; velocidade de corte média do trajeto: 30 μ m/s; velocidade do trajeto médio mínimo: 40 μ m/s; corte de velocidade em linha reta: 20 μ m/s; intensidade da cabeça não móvel: 90; tamanho da cabeça não móvel: 5 pixels; ampliação: X 1,95; temperatura: 38°C). Cinco campos de análise foram escolhidos aleatoriamente. Os seguintes parâmetros cinéticos espermáticos foram analisados: motilidade total (MT, %), motilidade progressiva (MP, %), porcentagem de espermatozoides rápidos (RAP, %), velocidade média do trajeto (VAP, μ m/s), velocidade em linha reta (VSL, μ m/s), velocidade curvilínea (VCL, μ m/s), amplitude de deslocamento lateral da cabeça (ALH, μ m), frequência de batimento cruzado (BCF, Hz), retidão (STR, %) e linearidade (LIN, %). Para análise da morfologia espermática, cada alíquota de sêmen foi diluída em solução de formol salina a 4% e a morfologia espermática avaliada sob microscopia de contraste de interferência diferencial (DIC). A amostra foi colocada entre lâmina e

lamínula, e foi realizada a observação sob microscopia em imersão de 1000x (Nikon, NiU, Japan). Foi realizada contagem de 200 células por amostra, conforme recomendação do CBRA (2013), e as alterações morfológicas classificadas em defeitos maiores, menores e totais (Blom, 1973).

2.7. Taxa de concepção dos touros

A EMN seguiu a proporção macho:fêmeas média de 1:22 (01 touro para 22 vacas em lotes individuais), com total de 629 vacas avaliadas. A taxa de concepção de cada touro (n=29) foi determinado individualmente a partir da taxa de prenhez (TP) de cada lote. Trinta dias após o término da EMN, as vacas do lote individual ao qual o touro pertenceu foram submetidas a diagnóstico de gestação por ultrassonografia transretal após 30 dias do término da EMN, e a TP foi calculada pela fórmula:

$$TP (\%) = \text{n}^\circ \text{ de fêmeas prenhes} / \text{n}^\circ \text{ de fêmeas que participaram da EMN} \times 100.$$

Conforme a tabela 1, os touros foram classificados em três grupos de fertilidade conforme a taxa de prenhez no final da EMN: Grupo baixa fertilidade (BF; taxa de prenhez de 66,57±0,62%), Grupo média fertilidade (MF; taxa de prenhez de 76,47±0,51%) e Grupo alta fertilidade (AF; taxa de prenhez de 84,80±0,60%). As avaliações anteriores a EMN (setembro, outubro e novembro) foram utilizadas para analisar se as técnicas de termografia infravermelha, ultrassonografia testicular e CASA seriam capazes de fornecer parâmetros capazes de prever a fertilidade dos touros.

Tabela 1 Média de idade (anos) e peso (Kg) dos touros, número total de vacas e total de vacas prenhes e taxa de prenhez de touros com baixa (BF), média (MF) e alta (AF) fertilidade em manejo de EMN.

	BF (n=9)	MF (n=10)	AF (n=10)	<i>P</i>
Idade (ano)	2,56±0,50	2,35±0,48	2,65±0,47	0.5484
Peso (kg)	575,12±81,81	576,72±82,28	628,47±81,50	0.4005
Nº total de vacas	192	210	227	-
Nº de vacas prenhes	129	160	193	-
Taxa de prenhez (%)	66,57±0,62 ^c	76,47±0,51 ^b	84,80±0,60 ^a	<0.0001

2.8. Análise Estatística

Os dados de fertilidade a campo foram submetidos a análise com uso do PROC UNIVARIATE com auxílio do programa SAS®, para a classificação dos grupos. Para isso, foi observada a distribuição entre os quartis inferior (Grupo 1 = baixa taxa de prenhez), intermediário (Grupo 2 = média taxa de prenhez) e superior (Grupo 3 = alta taxa de prenhez).

Os resultados foram submetidos a análise de variância utilizando-se o PROC MIXED, ajustando o modelo com os efeitos fixos de safra ($i=1, 2$), mês ($j=1, \dots, 6$) de coleta e idade do animal ($k=1, \dots, 3$), além do efeito fixo de disposição do testículo (relaxado ou contraído) e da covariável hora, somente para a análise das temperaturas mensuradas por TIV. A variância residual foi modelada considerando a estrutura de (co)variâncias AR (autoregressive). As médias foram ajustadas pelo método dos quadrados mínimos (“LSMEANS”) e comparados, quando necessário, por meio da probabilidade da diferença (“PDIFF”), utilizando o teste “t”. Foi estimado o coeficiente de correlação de Pearson entre as temperaturas da região ocular mensurada por TIV e temperatura retal utilizando o procedimento PROC CORR. Significância estatística foi declarada quando $P < 0,05$.

3. RESULTADOS

A Figura 3 representa os valores médios diários de temperatura ($^{\circ}\text{C}$), umidade relativa do ar (%), e índice de temperatura e umidade (ITU) durante todo período experimental. Os valores médios de ITU do primeiro dia de avaliação de cada mês, das variáveis termográficas e de temperatura retal, bem como a média dessas variáveis antes e após a EMN estão apresentados na Tabela 2. Os meses de outubro e novembro apresentaram os maiores valores de ITU ($P < 0,0001$), comparado aos demais meses. Nas condições climáticas avaliadas neste estudo foi observada maior média de ITU antes do que após EMN ($P = 0,0485$).

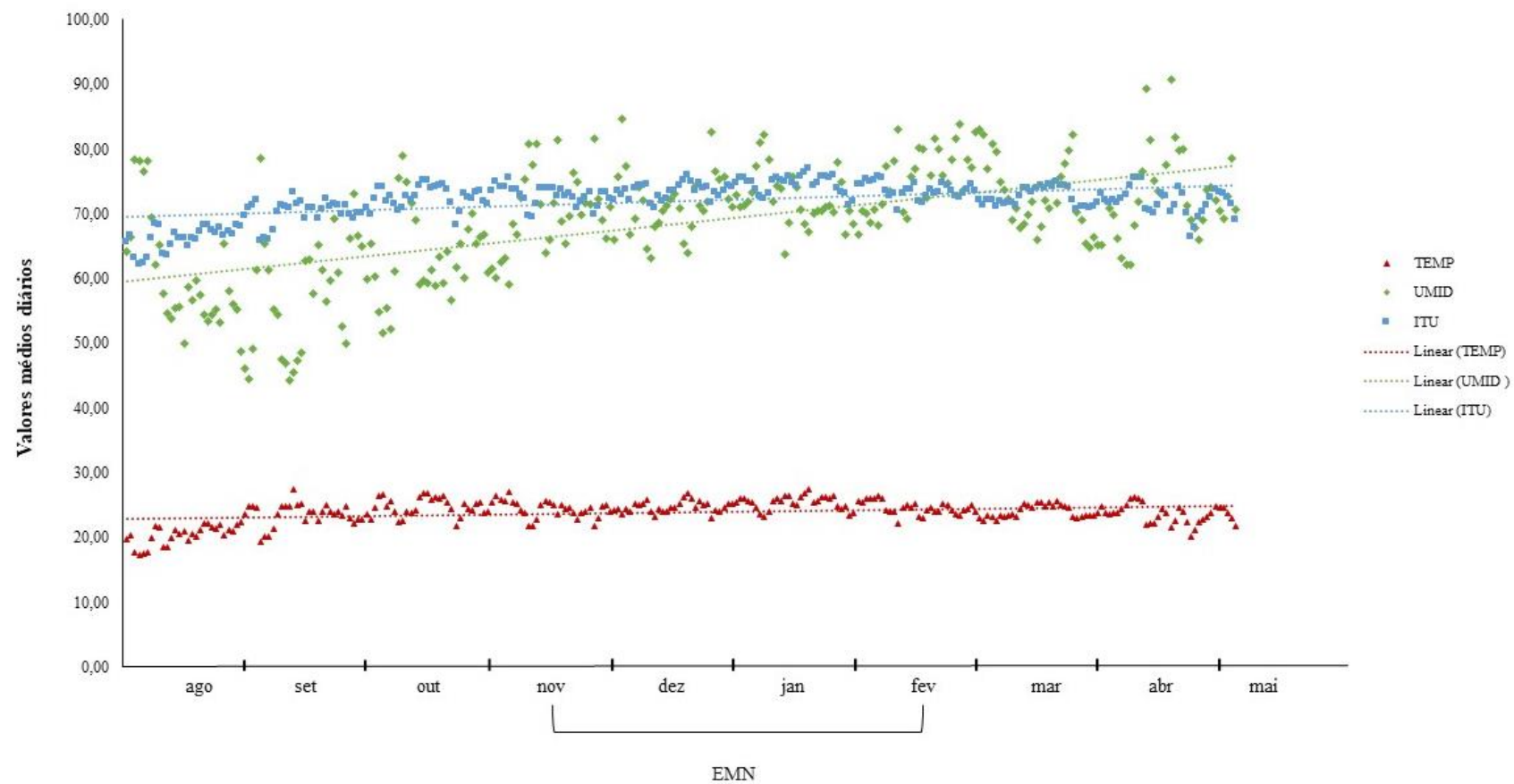


Figura 3. Valores médios diários de temperatura ($^{\circ}\text{C}$), umidade relativa do ar (%), e índice de temperatura e umidade (ITU) dura todo período experimental.

Tabela 2. Média estimada do Índice de Temperatura e Umidade e das temperaturas corporais durante os meses experimentais e antes e após a EMN

Variáveis									EPM	<i>P</i>	<i>P</i>
	Set	Out	Nov	Mar	Abr	Mai	Antes EMN	Após EMN	Meses	EMN	
Índice de Temperatura e Umidade											
ITU	69,25 ^c	76,94 ^a	76,51 ^a	74,29 ^b	70,60 ^c	73,77 ^b	74,18 ^A	72,68 ^B	0,71	<0,0001	0,0485
Temperaturas Corporais											
TPP (°C)	34,61 ^b	35,75 ^a	35,50 ^a	34,37 ^b	34,48 ^b	35,93 ^a	35,52 ^A	34,88 ^B	0,28	<0,0001	0,0055
TPD (°C)	30,64 ^b	32,21 ^a	31,95 ^a	30,93 ^b	30,85 ^b	31,53 ^{ab}	31,69 ^A	31,08 ^B	0,34	<0,0001	0,0208
GT (°C)	3,94 ^{ab}	3,52 ^b	3,51 ^b	3,41 ^b	3,61 ^b	4,39 ^a	3,83	3,79	0,26	0,0901	0,8299
OCULAR (°C)	34,22 ^b	35,71 ^a	35,48 ^a	34,54 ^b	34,52 ^b	35,63 ^a	35,39 ^A	34,91 ^B	0,23	<0,0001	0,0096
TR (°C)	38,22 ^{bc}	38,60 ^a	38,32 ^{ab}	38,48 ^{ab}	37,94 ^c	38,44 ^{ab}	38,38	38,22	0,14	0,0011	0,2168

ITU: índice de temperatura e umidade, TPP: temperatura do polo proximal do escroto, TPD: temperatura do polo distal do escroto, GT: gradiente de temperatura escrotal, OCULAR: temperatura da região ocular, TR: temperatura retal. EPM: Erro padrão da média. Letras minúsculas sobrescritas na mesma linha indicam diferenças estatísticas entre os meses ($P < 0,05$). Letras maiúsculas sobrescritas na mesma linha indicam diferenças estatísticas antes e após a estação de monta natural (EMN) ($P < 0,05$).

As temperaturas superficiais do escroto TPP e TPD, e de OCULAR foram maiores ($P < 0,0001$) nos meses de outubro, novembro e maio, e menores em setembro, março e abril. As temperaturas de TPP ($P = 0,0055$), TPD ($P = 0,0208$) e OCULAR ($P = 0,0096$) foram maiores nos períodos que antecederam a EMN. Não foi observado diferença entre o gradiente de temperatura ($P = 0,8299$) e a temperatura retal ($P = 0,2168$) na média dos períodos antes e após a EMN. Foi observado um coeficiente de correlação (r) de 0,67 entre as variáveis OCULAR e temperatura retal.

Dentre as características seminais, os menores valores de MT, MP e RAP foram observados em setembro. As velocidades VAP, VSL, VCL apresentaram-se bastante variáveis entre os meses de avaliação, enquanto ALH e BCF apresentaram menores nos meses após a EMN e LIN apresentou maiores valores nos meses após EMN. Antes da EMN foi observado maiores valores para VAP ($P = 0,0090$), VSL ($P = 0,0930$), VCL ($P = 0,0003$), ALH ($P = 0,0005$), e BCF ($P = 0,0101$) e menores para MT ($P = 0,0605$), MP ($P = 0,0169$), STR ($P = 0,0199$) e LIN ($P = 0,0011$). Neste estudo, foi observada variação na morfologia espermática somente para defeitos menores, sendo que nos meses de setembro e novembro os valores médios foram maiores ($P = 0,0130$), quando comparado aos demais meses. Como consequência, foi observada menor porcentagem de defeitos menores após a EMN ($P = 0,0044$) (Tabela 3).

Tabela 3. Média estimada do Índice de Temperatura e Umidade e das características seminais durante os meses experimentais e antes e após a EMN

Variáveis								EPM	P Meses	P EMN	
	Set	Out	Nov	Mar	Abr	Mai	Antes EMN				Após EMN
MT (%)	81,62 ^b	86,28 ^{ab}	87,17 ^a	86,65 ^a	87,63 ^a	92,49 ^a	85,59 ^B	88,73 ^A	2,27	0,0276	0,0605
MP (%)	58,66 ^c	59,46 ^{bc}	62,24 ^{bc}	64,97 ^{ab}	64,85 ^{ab}	68,96 ^a	61,06 ^B	65,82 ^A	2,61	0,0765	0,0169
RAP (%)	79,24 ^b	82,31 ^{ab}	85,17 ^a	84,10 ^a	84,44 ^a	88,41 ^a	82,82	85,47	2,06	0,0925	0,1286
VAP (µm/s)	105,30 ^{ab}	102,06 ^b	110,40 ^a	98,95 ^b	104,44 ^{ab}	101,86 ^{ab}	108,79 ^A	100,58 ^B	4,14	0,0113	0,0090
VSL (µm/s)	82,77 ^{ab}	79,01 ^b	85,32 ^a	79,74 ^b	83,84 ^a	81,44 ^{ab}	84,27 ^A	81,11 ^B	2,52	0,0242	0,0930
VCL (µm/s)	181,21 ^{ab}	175,21 ^{bc}	191,38 ^a	159,60 ^c	170,11 ^{bc}	163,51 ^{bc}	187,78 ^A	162,15 ^B	8,81	0,0006	0,0003
ALH (µm)	7,15 ^{ab}	7,13 ^{ab}	7,46 ^a	6,40 ^c	6,62 ^{bc}	6,42 ^{bc}	7,33 ^A	6,42 ^B	0,33	0,0054	0,0005
BCF (Hz)	27,53 ^a	26,78 ^{ab}	27,33 ^a	24,78 ^b	25,91 ^{ab}	25,19 ^{ab}	27,51 ^A	25,27 ^B	1,15	0,1146	0,0101
STR (%)	79,34	78,27	78,41	81,14	81,36	81,50	78,86 ^B	81,42 ^A	1,50	0,2627	0,0199
LIN (%)	49,23 ^b	48,45 ^b	48,54 ^b	52,95 ^a	52,79 ^a	53,57 ^a	48,91 ^B	53,16 ^A	1,68	0,0253	0,0011
DEFM (%)	9,99	8,83	8,91	10,07	10,38	11,60	9,78	10,89	1,59	0,7402	0,2731
DEFm (%)	6,92 ^a	3,38 ^b	6,68 ^a	3,12 ^b	3,04 ^b	2,93 ^b	6,25 ^A	2,90 ^B	1,50	0,0130	0,0044
DEFT (%)	15,99	12,36	15,24	13,10	13,35	14,42	15,59	13,56	2,21	0,3966	0,1880

MT: motilidade espermática, MP: motilidade progressiva, RAP: espermatozoides rápidos, VAP: velocidade de trajeto, VSL: velocidade progressiva, VCL: velocidade curvilínea, ALH: amplitude lateral da cabeça, BCF: frequência de batimentos flagelares, STR: retilinearidade, LIN: linearidade, DEFM: defeitos maiores, DEFm: defeitos menores, DEFT: defeitos totais. EPM: Erro padrão da média. Letras minúsculas sobrescritas na mesma linha indicam diferenças estatísticas entre os meses ($P < 0,05$). Letras maiúsculas sobrescritas na mesma linha indicam diferenças estatísticas antes e após a estação de monta natural (EMN) ($P < 0,05$).

Para os parâmetros ultrassonográficos, de maneira geral foi observado no mês de outubro maiores valores para diâmetro vascular, PS e ED e para IP e IR os maiores valores foram observados no mês de abril. Não houve diferença nos valores médios dos parâmetros Doppler, antes e após a EMN. Na análise de imagem em modo-B, foram observados menores valores médios de intensidade de pixel (IPMax, IPMed, IPMin) e heterogenicidade, nos meses após a EMN ($P = 0,0001$, $P < 0,0001$, $P = 0,0001$, $P = 0,0003$, respectivamente) (Tabela 4).

Tabela 4. Média estimada dos parâmetros ultrassonográficos durante os meses experimentais e antes e após a EMN

Variáveis									EPM	P	P
	Set	Out	Nov	Mar	Abr	Mai	Antes EMN	Após EMN		Meses	EMN
Diâmetro (cm)	0,25 ^c	0,27 ^a	0,26 ^{bc}	0,27 ^a	0,26 ^{bc}	0,28 ^a	0,26	0,27	0,006	0,0054	0,2893
VPS (cm/s)	15,48 ^c	17,69 ^a	16,33 ^{bc}	16,76 ^{ab}	15,70 ^c	17,24 ^{ab}	16,22	16,52	0,72	0,0004	0,5858
VPD (cm/s)	6,61 ^b	7,69 ^a	7,11 ^{ab}	7,79 ^a	6,27 ^b	8,16 ^a	6,95	7,38	0,53	<0,0001	0,2891
IP	0,91 ^{ab}	0,91 ^{ab}	0,89 ^{ab}	0,81 ^b	0,98 ^a	0,83 ^b	0,93	0,88	0,07	0,0132	0,2732
IR	0,56 ^{ab}	0,57 ^{ab}	0,56 ^{ab}	0,53 ^b	0,59 ^a	0,53 ^b	0,57	0,55	0,03	0,0166	0,3195
IPMax (pixels)	126,95 ^a	129,22 ^a	126,23 ^a	120,63 ^b	118,91 ^b	118,58 ^b	126,07 ^A	119,77 ^B	2,13	0,0001	0,0001
IPMed (pixels)	73,76 ^b	76,46 ^a	73,08 ^b	67,19 ^c	65,89 ^c	66,78 ^c	73,40 ^A	67,00 ^B	1,97	<0,0001	<0,0001
IPMin (pixels)	25,45 ^b	27,97 ^a	25,24 ^b	21,74 ^c	20,12 ^c	21,52 ^c	25,34 ^A	21,35 ^B	1,43	<0,0001	0,0001
Heterog (pixels)	16,71 ^a	16,60 ^a	16,64 ^a	16,17 ^b	16,30 ^b	16,04 ^b	16,65 ^A	16,17 ^B	0,16	0,0016	0,0003

VPS: velocidade do pico sistólico, VPD: velocidade do pico diastólico, IP: índice de pulsatilidade, IR: índice de resistência, IPMed: intensidade de pixel média, IPMin: intensidade de pixel mínima, IPMax: intensidade de pixel máxima, Heterog: heterogenicidade. EPM: Erro padrão da média. Letras minúsculas sobrescritas na mesma linha indicam diferenças estatísticas entre os meses ($P < 0,05$). Letras maiúsculas sobrescritas na mesma linha indicam diferenças estatísticas antes e após a estação de monta natural (EMN) ($P < 0,05$).

Na Tabela 5, estão apresentados os valores médios de cada variável analisada por grupo de fertilidade. A técnica de TIV não forneceu nenhum indicador de fertilidade nos touros Nelore. Dentre os parâmetros avaliados pelo CASA, foi observado que os valores médios de VAP e VSL foram maiores no grupo AF, quando comparado ao grupo BF ($P = 0,0119$, $P = 0,0310$, respectivamente). Para os parâmetros ultrassonográficos, foram observados maiores valores médios dos índices vasculares, IP e IR no grupo AF, em comparação ao grupo BF ($P = 0,0493$, $P = 0,0480$, respectivamente).

Tabela 5. Média estimada dos parâmetros de termografia infravermelha, análise computadorizada do movimento espermático (CASA) e ultrassonografia testicular nos touros de baixa, média e alta fertilidade

Variáveis				EPM	P
	Baixa (n=9)	Média (n=10)	Alta (n=10)		
Termografia Infravermelha					
TPP (°C)	35,68	35,36	35,17	0,21	0,3087
TPD (°C)	31,89	32,28	31,85	0,32	0,5502
GT (°C)	3,78 ^a	3,08 ^b	3,33 ^{ab}	0,24	0,1305
OCULAR (°C)	35,30	35,55	35,46	0,20	0,6671
CASA					
MT (%)	82,19	83,79	86,09	2,10	0,4649
MP (%)	61,66	56,37	61,31	2,57	0,2310
RAP (%)	79,43	81,82	82,72	2,22	0,6063
VAP (µm/s)	100,02 ^b	114,96 ^a	110,98 ^a	3,34	0,0119
VSL (µm/s)	79,84 ^b	86,92 ^a	87,05 ^a	1,97	0,0310
VCL (µm/s)	173,22 ^b	201,40 ^a	190,78 ^{ab}	8,19	0,0629
ALH (µm)	6,91	7,75	7,53	0,36	0,2579
BCF (Hz)	28,62	26,63	28,22	0,93	0,2192
STR (%)	80,82	76,51	79,23	1,73	0,1937
LIN (%)	49,76	46,68	49,53	1,91	0,4085
Ultrassonografia Testicular					
Diâmetro (cm)	0,26	0,26	0,26	0,005	0,9148
VPS (cm/s)	15,68	16,15	17,06	0,9	0,5985
VPD (cm/s)	8,17 ^a	6,69 ^b	7,27 ^{ab}	0,58	0,2178
IP	0,69 ^b	0,96 ^a	0,93 ^a	0,08	0,0493
IR	0,48 ^b	0,58 ^a	0,57 ^a	,03	0,0480
IPMed(pixels)	75,79	73,36	74,44	2,39	0,7667
IPMin (pixels)	27,02	25,74	26,61	1,85	0,8746
IPMax (pixels)	128,92	125,12	126,33	2,34	0,5180
Heterog (pixels)	16,69	16,46	16,56	0,15	0,5402

TPP: temperatura do polo proximal do escroto, TPD: temperatura do polo distal do escroto, GT: gradiente de temperatura escrotal, OCULAR: temperatura da região ocular, MT: motilidade espermática, MP: motilidade progressiva, RAP: espermatozoides rápidos, VAP: velocidade de trajeto, VSL: velocidade progressiva, VCL: velocidade curvilínea, ALH: amplitude lateral da cabeça, BCF: frequência de batimentos flagelares, STR: retilinearidade, LIN: linearidade, VPS: velocidade do pico sistólico, VPD: velocidade do pico diastólico, IP: índice de pulsatilidade, IR: índice de resistência, IPMed: intensidade de pixel média, IPMin: intensidade de pixel mínima, IPMax: intensidade de pixel máxima, Heterog: heterogeneidade. EPM: Erro padrão da média. Letras minúsculas sobrescritas na mesma linha indicam diferenças estatísticas ($P < 0,05$).

4. DISCUSSÃO

O presente estudo demonstrou a variação climática nos dois meses anteriores e posteriores a EMN, e seu reflexo nas características térmicas, seminais e ultrassonográficas de touros Nelore criados a campo. Segundo Menegassi et al. (2015), a maioria dos estudos avaliam o estresse térmico em ambientes climatizados, ou por meio de insulação escrotal, devido à dificuldade de conduzir experimentos em ambientes naturais. A sazonalidade, condição térmica, nutrição e manejo são fatores com grande influência sobre os parâmetros reprodutivos do touro, bem como a qualidade dos espermatozoides produzidos (Malama et al., 2017; Bourgon et al., 2018). Entre esses fatores, o estresse térmico pode ser considerado uma das principais causas de subfertilidade e redução do potencial reprodutivo, e genético dos animais (Marai et al., 2008; Habeeb et al., 2018).

Para avaliar as condições ambientais as quais os animais são submetidos, o ITU é considerado excelente indicador térmico (Llamas-Luceño et al., 2020). Recentemente, estudos descreveram que os valores médios de ITU estão diretamente relacionados às temperaturas escrotais, mensuradas por meio de termografia infravermelha (Barros et al., 2016; Menegassi et al., 2016). Este fato, corrobora com os dados obtidos em nosso estudo, em que a temperatura de ambos os polos do escroto, e da região ocular foram maiores nos meses de maior ITU. Ainda na avaliação realizada por TIV, foi determinado o GT por meio da diferença de temperatura entre os polos do escroto. No presente estudo, os maiores gradientes de temperatura foram observados na primeira avaliação realizada no final do inverno (setembro), e na última realizada no final do outono (maio). O que pode ser explicado pela maior amplitude térmica entre o dia e a noite nos referidos meses. Resultados semelhantes ao presente estudo foram observados em touros Braford, em que o GT foi maior na época de inverno (4,0°C) em comparação com o verão (0,9°C) (Menegassi et al., 2015).

Em situações de desconforto térmico, os animais ativam mecanismos de dissipação de calor, na tentativa de manter a homeotermia (Marai et al., 2008). A temperatura retal, é a medida primária considerada um indicador fisiológico consistente para a temperatura corporal (Romanello et al., 2018). No presente estudo, mesmo nos meses em que o ITU se apresentou dentro da faixa de alerta para estresse

térmico, a temperatura retal média permaneceu dentro da faixa considerada normal (38,1 a 39,1°C) para bovinos (Robinson, 2014). Os valores de temperatura obtidos, indicam que as condições ambientais não foram capazes de prejudicar a capacidade termolítica dos touros.

Na busca por um método confiável de avaliação da temperatura corporal, sem necessidade de contato com os animais, estudos anteriores relataram que a temperatura da região ocular mensurada por TIV foi correlacionada com a temperatura retal (Schaefer et al., 2004; Hoffmann et al., 2013). O valor do coeficiente de correlação entre OCULAR e TR (0,67) do presente estudo é considerado mediano, sendo superior ao descrito por Giro et al. (2019) ($r=0,34$), e por Barros et al. (2016) (0,58) em búfalos. Atualmente, dentre as mensurações por meio de TIV, a região ocular representa o método mais seguro para inferência da temperatura corporal interna (Giro et al., 2019).

A cinética espermática é um dos requisitos mais importantes relacionados a fertilidade. Diante disso, a técnica CASA foi modelada matematicamente para melhor descrever o movimento de cada espermatozoide (Verstegen et al., 2002). No presente estudo, apesar dos maiores valores observados para as velocidades espermáticas, VAP, VSL e VCL antes da EMN, as maiores porcentagens de MT, MP, STR e LIN foram observadas nas avaliações após a EMN. Estas características indicam um movimento progressivo mais desejado ao espermatozoide, para que chegue ao sítio de fertilização (Yeste et al., 2018).

O ALH é um determinante importante para diferenciação entre motilidade ativa e hiperativada, uma vez que, ALH e VCL aumentam muito em espermatozoides hiperativados (Gil et al., 2009). O BCF, é indicativo de vigor espermático, e segundo Gil et al. (2009), pode também estar relacionado a hiperativação. No presente estudo foi observado menores valores de ALH e BCF depois da EMN quando comparado ao período anterior a EMN. Os parâmetros fornecidos pelo CASA, de maneira geral, apresentaram-se melhores após a EMN. Possivelmente pelo fato de que os touros estavam em repouso sexual antes de entrarem na EMN, o que sugere que a melhora da qualidade seminal pós-estação seja devido ao intenso manejo reprodutivo na EMN.

Na avaliação da qualidade seminal dos touros, a morfologia espermática é uma análise de suma importância e indispensável. Segundo Kastelic et al. (2001), a

elevação moderada da temperatura testicular pode diminuir a produção e a motilidade espermática e, aumentar a porcentagem de defeitos morfológicos no ejaculado. No presente estudo, apenas defeitos menores apresentaram diferença significativa quando comparado antes e após a EMN. Ahirwar et al. (2018), em estudo sobre a termorregulação escrotal de búfalos, demonstraram que quanto maior o GT escrotal, menores as porcentagens de defeitos espermáticos no ejaculado. Entretanto, no presente estudo, e assim como relatado por Menegassi et al. (2018), tal associação não foi observada. As condições ambientais do presente estudo, não causaram impactos significativos nas porcentagens de defeitos maiores e totais. Estes resultados sugerem que a diminuição dos defeitos menores também não tenha sofrido influência das razões climáticas, mas assim como a cinética, tenha sido influenciada positivamente pela constante atividade sexual dos touros na EMN.

Complementar ao andrológico a ultrassonografia Doppler tem sido usada para avaliar a dinâmica do fluxo sanguíneo testicular, visto seu papel crucial nas características funcionais do órgão (Wood et al., 2010). Os valores médios dos parâmetros Doppler observados no presente estudo foram próximos aos valores apresentados por Rodrigues et al. (2020), porém, superiores aos registrados por Junior et al. (2018) em diversas raças bovinas, incluindo touros da raça Nelore. Além disso, alguns estudos têm demonstrado a influência do ITU nos parâmetros Doppler (Claus et al., 2019; Fávoro et al., 2020). No entanto, a similaridade desses parâmetros, antes e após a EMN no presente estudo, sugerem que os valores de ITU não provocaram mudanças significativas no fluxo sanguíneo testicular, e provavelmente não houve dificuldades em manter a homeostase. Segundo Junior et al. (2018), a termorregulação testicular provoca alterações no fluxo sanguíneo testicular.

As mudanças relacionadas a ecogenicidade e homogeneidade do parênquima podem ser reflexos de mudanças celulares fisiológicas, ou patológicas (Kastelic e Brito, 2012). No presente estudo, a intensidade de pixel média, mínima e máxima do parênquima testicular diminuíram nos meses pós EMN. Este resultado, pode ser devido a influência da EMN e a constante atividade sexual dos touros, uma vez que o aumento da produção de fluidos testiculares reflete menor ecogenicidade no parênquima testicular (Ahmad et al. 2011). Ainda diante dos resultados do presente estudo, foi possível observar associação do aumento da homogeneidade do

parênquima testicular com diminuição dos DEFm após EMN. Corroborando com o descrito por Ahmadi et al. (2012), em que, a heterogenicidade do parênquima testicular foi correlacionada positivamente com a porcentagem de defeitos morfológicos no ejaculado.

A fertilidade é uma característica complexa, e a melhor forma de prever o potencial de fertilidade de um reprodutor é utilizando um compilado de técnicas e indicadores, avaliados em conjunto, para melhor seleção dos animais (Boe-Hansen e Satake, 2019). Por isso, no presente estudo foi utilizado três avaliações para analisar a sensibilidade das técnicas de termografia infravermelha, CASA e ultrassonografia testicular em detectar diferenças entre os grupos de fertilidade, e assim fornecer parâmetros indicadores de fertilidade. É importante ressaltar que os grupos trabalhados nesse estudo são de animais com fertilidade distintas, mas todos considerados aptos a reprodução por meio do exame andrológico.

Embora alguns estudos classifiquem a termografia infravermelha como uma ferramenta eficiente para avaliar os efeitos das condições ambientais nas características seminais (Menegassi et al., 2015; Ahirwar et al., 2018), a utilização dessa técnica como ferramenta diagnóstica na avaliação andrológica de touros neste estudo não foi observada, uma vez que, não foi eficaz para identificar parâmetros indicativos de fertilidade entre os touros considerados de baixa, média e alta fertilidade.

Já dentre os parâmetros fornecidos pela técnica CASA, foi observado que os valores médios de VAP e VSL foram maiores no grupo de touros que apresentaram alta fertilidade. Embora as características de cinética sejam reconhecidamente importantes para o processo de fertilização, ainda não se tem clareza de quais parâmetros CASA possuem potencial para predizer a fertilidade do macho. Verstegen et al. (2002) observaram que os valores de VAP, VSL e VCL foram maiores em amostras que produziram mais de 50% de oócitos fertilizados quando comparado as amostras em que a taxa de fertilização de oócitos foi menor que 50%. Em estudo realizado em codornas japonesas foi observado que algumas cepas apresentaram correlações significativas entre VAP e VSL e os parâmetros de fertilidade do ovo (Farooq et al., 2018). A técnica CASA possui grande potencial como ferramenta de pesquisa, e acredita-se que futuramente testes funcionais de qualidade do

espermatozoide serão incorporados a essa técnica, com o objetivo de prever melhor a fertilidade relativa, tanto na andrologia humana, como na reprodução animal (Mortimer et al., 2015).

Como técnica auxiliar da andrologia bovina, a ultrassonografia em modo-B, é utilizada para fins de pesquisa, como o monitoramento da maturação testicular de touros em desenvolvimento sexual (Abdel-Razek e Ali, 2005; Brito et al., 2012), e avaliação de danos causados ao parênquima testicular em estudos com insulação escrotal (Brito et al., 2003; Arteaga et al., 2005). Entretanto, quando há ausência de lesões focais no testículo, a técnica não fornece parâmetros que possibilitem observar diferença entre animais aptos a reprodução, mas que possuem fertilidade distinta (Brito et al., 2012; Kastelic et al., 2018).

Já a ultrassonografia Doppler tem sido utilizada como ferramenta para avaliar a capacidade de perfusão do tecido testicular em reprodutores bovinos (Gloria et al., 2018). Estudos recentes em touros (Gloria et al., 2018), garanhões (Ortiz-Rodriguez et al., 2017) e em cães (Gloria et al., 2020) têm relatado que animais considerados subférteis possuem valores de IP e IR maiores, quando comparados à animais férteis. Além disso, os autores observaram correlações negativas entre os índices e as características seminais. No entanto, esses resultados só foram observados quando a mensuração foi realizada na porção capsular (Ortiz-Rodriguez et al., 2017), marginal e intratesticular (Gloria et al., 2018; 2020) da artéria testicular. No presente estudo, os parâmetros Doppler foram mensurados na porção supratesticular, e quando comparado entre os grupos de fertilidade, os animais do grupo de alta fertilidade apresentaram maiores valores de IP e IR. Este fato, pode ser explicado pela localidade da mensuração dos parâmetros Doppler na artéria testicular, e também possivelmente pela anatomia vascular que os animais *Bos indicus* apresentam. Em animais de origem zebuína, a proporção do comprimento e volume da artéria, em relação ao volume testicular é maior, em comparação a animais *Bos taurus*, fato que pode aumentar a eficiência da termorregulação testicular nesses animais (Brito et al., 2004). Junior et al. (2018) observaram melhor termorregulação em touros Nelore, sugerindo que por conta disso possuem velocidade média (VM) do fluxo sanguíneo menor do que outras raças. Levando em consideração que VM possui correlação negativa com

IP e IR, ajuda a explicar os maiores valores de IP e IR nos animais de alta fertilidade observados no presente estudo.

Os resultados do presente estudo demonstraram que a técnica de termografia infravermelha não é eficiente como indicador de fertilidade em reprodutores bovinos. Todavia, alguns parâmetros da técnica CASA, e da ultrassonografia modo Doppler podem ser considerados bons indicadores de fertilidade. No entanto, mais estudos são necessários para consolidação de tais resultados.

5. CONCLUSÃO

As avaliações antes e após a EMN permitem concluir que, a utilização de touros Nelore sob manejo reprodutivo de EMN em regiões de clima tropical semiúmido, é viável por não apresentar reflexos negativos nas características reprodutivas, possivelmente pelas condições ambientais não gerarem desafios suficientemente grandes aos animais.

A técnica de termografia infravermelha não fornece parâmetros indicadores de fertilidade em touros Nelore nessas condições experimentais. Parâmetros VAP e VSL fornecidos pela técnica CASA, e IP e IR fornecidos por ultrassonografia Doppler podem ser considerados indicadores de fertilidade.

REFERÊNCIAS

Abdel-Razek AK, Ali A (2005) Developmental changes of bull (*Bos taurus*) genitalia as evaluated by caliper and ultrasonography. **Reproduction in Domestic Animals** 40:23-27.

Ahirwar MK, Kataktalware MA, Ramesha KP, Pushpadass HA, Jeyakumar S, Revanasiddu D, Kour RJ, Nath S, Nagaleekar AK, Nazar S (2017) Influence of season, age and management on scrotal thermal profile in Murrah bulls using scrotal infrared digital thermography. **International Journal of Biometeorology** 61:2119–2125.

Ahmad E, Ahmad N, Naseer Z, Aleem M, Khan MS, Ashiq M, Younis M (2011) Relationship of age to body weight, scrotal circumference, testicular ultrasonograms, and semen quality in Sahiwal bulls. **Tropical Animal Health and Production** 43:159-164.

Ahmadi B, Lau CPS, Giffin J, Santos N, Hahnel A, Raeside J, Christie H, Bartlewski P (2012) Suitability of epididymal and testicular ultrasonography and computerized image analysis for assessment of current and future semen quality in the ram. **Experimental Biology and Medicine** 237:186-193.

Ahmadi B, Mirshahi A, Giffin J, Oliveira MEF, Gao L, Hahnel A, Bartlewski PM (2013) Preliminary assessment of the quantitative relationships between testicular tissue composition and ultrasonographic image attributes in the ram. **Veterinary Journal** 198:282–285.

Arteaga AA, Barth AD, Brito LF (2005) Relationship between semen quality and pixel-intensity of testicular ultrasonograms after scrotal insulation in beef bulls. **Theriogenology** 64:408-415.

Baeta FCDA (1986) **Responses of lactating dairy cows to the combined effects of temperature, humidity and wind velocity in the warm season**. Tese (Doutorado em Agricultural Engineering-Structures and Environment) - Univ. of Missouri, Columbia.

Barros DV, Silva LKX, Kahwage PR, Lourenço Junior JB, Sousa JS, Silva AGM, Franco IM, Martorano LG, Garcia AR (2016) Assessment of surface temperatures of buffalo bulls. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** 68:422–430.

Berry DP, Evans RD, Mc Parland S (2011) Evaluation of bull fertility in dairy and beef cattle using cow field data. **Theriogenology** 75:172–181.

Blom E (1973) The ultrastructure of some characteristic sperm defects and a proposal for a new classification of the bull spermogram. **Nord Vet Med** 25:383–391.

Boe-Hansen GB, Satake N (2019) An update on boar semen assessments by flow cytometry and CASA. **Theriogenology** 137:93–103.

Bourgon SL, Amorim MD, Chenier T, Sargolzaei M, Miller SP, Martell JE, Montanholi YR (2018) Relationships of nutritional plane and feed efficiency with sexual development and fertility related measures in young beef bulls. **Animal Reproduction Science** 198:99–111.

Brito LF, Silva AE, Barbosa RT, Unanian MM, Kastelic JP (2003) Effects of scrotal insulation on sperm production, semen quality, and testicular echotexture in *Bos indicus* and *Bos indicus* × *Bos taurus* bulls. **Animal reproduction science** 79:1-15.

Brito LFC, Silva AEDF, Barbosa RT, Kastelic JP (2004) Testicular thermoregulation in *Bos indicus*, crossbred and *Bos taurus* bulls: Relationship with scrotal, testicular vascular cone and testicular morphology, and effects on semen quality and sperm production. **Theriogenology** 61:511–528.

Brito LFC, Barth AD, Wilde RE, Kastelic JP (2012) Effect of growth rate from 6 to 16 months of age on sexual development and reproductive function in beef bulls. **Theriogenology** 77:1398-1405.

Claus LAM, Junior FAB, Junior CK, Pereira GR, Fávares PC, Galdioli VHG, Seneda MM, Ribeiro ELA (2019) Scrotal skin thickness, testicular shape and vascular perfusion using Doppler ultrasonography in bulls. **Livestock Science** 226:61–65.

Costa e Silva EV, Filho LCCC, Souza CC, Oliveira CC, Queiroz VLD, Zúccari CESN (2015) Seleção de touros para reprodução a campo: novas perspectivas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal** 39:22-31.

Fair S, Romero-Aguirregomez J (2019) Implications of boar sperm kinematics and rheotaxia for fertility after preservation. **Theriogenology** 137: 15-22.

Farooq U, Malecki IA, Mahmood M, Martin GB (2018) Revisions non Highlighted Correlation between objective semen analysis and fertility in Japanese quail. **Theriogenology** 115: 23-29.

Fávaro PDAC, Pereria GR, Junior FAB, Adona PR, Franco EMV, Dias IS, Seneda MM, Junior CK (2020) Hemodynamic evaluation of the suprastesticular artery in bulls. **Livestock Science** 241:104-210.

Fonseca VO, Souza CF, Azevedo NA, Oliveira LZ, Monteiro GA, Cavalcanti LFL, Molina LR (2019) Parâmetros reprodutivos de touros Nelore (*Bos taurus indicus*) criados a pasto, em diferentes faixas etárias. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** 71:385-392.

Gil MC, García-Herreros M, Barón FJ, Aparicio IM, Santos AJ, García-Marín LJ (2009) Morphometry of porcine spermatozoa and its functional significance in relation with the motility parameters in fresh semen. **Theriogenology** 71:254-263.

Giro A, Bernardi ACC, Barioni Junior B, Lemes AP, Botta D, Romanello N, Barreto AN, Garcia AR (2019) Application of Microchip and Infrared Thermography for Monitoring Body Temperature of Beef Cattle Kept on Pasture. **Journal of Thermal Biology** 84:121–28.

Gloria A, Carluccio A, Wegher L, Robbe D, Valorz C, Contri A (2018) Pulse Wave Doppler Ultrasound of Testicular Arteries and Their Relationship with Semen Characteristics in Healthy Bulls. **Journal of Animal Science and Biotechnology** 9:1–7.

Gloria A, Francesco LDF, Marruchella GM, Robbe D, Contri A (2020) Pulse-Wave Doppler Pulsatility and Resistive Indexes of the Testicular Artery Increase in Canine Testis with Abnormal Spermatogenesis. **Theriogenology** 158:454–60.

Gnemmi G, Lefebvre RC (2009) Ultrasound Imaging of the Bull Reproductive Tract: An Important Field of Expertise for Veterinarians. **Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice** 25:767–79.

Habeeb AA, Gad AE, Atta MA (2018) Temperature-Humidity Indices as Indicators to Heat Stress of Climatic Conditions with Relation to Production and Reproduction of Farm Animals. **International Journal of Biotechnology and Recent Advances** 1:35–50.

Hoffmann G, Schmidt M, Ammon C, Rose-Meierhöfer S, Burfeind O, Heuwieser W, Berg W (2013) Monitoring the Body Temperature of Cows and Calves Using Video Recordings from an Infrared Thermography Camera. **Veterinary Research Communications** 37:91–99.

INMET - Instituto Nacional de Meteorologia (2021) Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <<https://portal.inmet.gov.br/>> Acesso em: 10 Dez. 2020.

Junior FAB, Junior CKJ, Fávoro PC, Pereira GR, Morotti F, Menegassi SRO, Barcellos JOJ, Seneda MM (2018) Effect of Breed on Testicular Blood Flow Dynamics in Bulls. **Theriogenology** 118:16–21.

Kastelic JP, Cook RB, Pierson RA, Coulter GH (2001) Relationships among scrotal and testicular characteristics, sperm production, and seminal quality in 129 beef bulls. **The Canadian journal of veterinary research** 65:111–115.

Kastelic JP (2014) Understanding and evaluating bovine testes. **Theriogenology** 81:18–23.

Kastelic JP, Brito LFC (2012) Ultrasonography for Monitoring Reproductive Function in the Bull. **Reproduction in Domestic Animals** 47:45–51.

Kastelic JP, Coulter GH, Cook RB (1995) Scrotal surface, subcutaneous, intratesticular, and intraepididymal temperatures in bulls. **Theriogenology** 44:147–152.

Kastelic JP, Rizzoto G, Thundathil J (2018) Review: Testicular vascular cone development and its association with scrotal thermoregulation, semen quality and sperm production in bulls. **Animal** 12:133–141.

Llamas-Luceño N, Hostens M, Mullaart E, Broekhuijse M, Lonergan P, Soom AV (2020) High temperature-humidity index compromises sperm quality and fertility of Holstein bulls in temperate climates. **Journal of Dairy Science** 103:9502–9514.

Lunstra DD, Coulter GH (1997) Relationship Between Scrotal Infrared Temperature Patterns and Natural-Mating Fertility in Beef Bulls. **Journal Animal Science**. 75:767–774.

Malama E, Zeron Y, Janett F, Siuda M, Roth Z, Bollwein H (2017) Use of computer-assisted sperm analysis and flow cytometry to detect seasonal variations of bovine semen quality. **Theriogenology** 87:79–90.

Marai IFM, El-Darawany AA, Fadiel A, Abdel-Hafez MAM (2008) Reproductive Performance Traits as Affected by Heat Stress and Its Alleviation in Sheep. **Tropical and Subtropical Agroecosystems** 8:209–234.

Menegassi SRO, Barcellos JOJ, Dias EA, Koetz Jr C, Pereira GR, Peripolli V, McManus C, Canozzi MEA, Lopes FG (2015) Scrotal infrared digital thermography as a predictor of seasonal effects on sperm traits in Braford bulls. **International Journal of Biometeorology** 59:357–364.

Menegassi SRO, et al. (2016) The uses of infrared thermography to evaluate the effects of climatic variables in bull's reproduction. **International journal of biometeorology** 60:151-157.

Menegassi SRO, et al., (2018) Infrared thermography as a noninvasive method to assess scrotal insulation on sperm production in beef bulls. **Andrologia** 50:e12904.

Mortimer ST (1997) A critical review of the physiological importance and analysis of sperm movement in mammals. **Human reproduction update** 3:403-439.

Mortimer ST, Van Der Horst G, Mortimer D (2015) The future of computer-aided sperm analysis. **Asian Journal of Andrology** 17:545–553.

Moura ABB et al. (2019) Differences in the thermal sensitivity and seminal quality of distinct ovine genotypes raised in tropical conditions. **Theriogenology** 123:123–131.

Nienaber JA, Hahn GL (2007) Livestock production system management responses to thermal challenges. **International Journal of Biometeorology** 52:149–157.

Ortiz-Rodriguez JM, Anel-Lopes L, Martín-Munoz P, Álvarez M, Gaitskell-Phillips, Anel L, Rodríguez-Medina P, Pena FJ, Ferrusola CO (2017) Pulse Doppler ultrasound as a tool for the diagnosis of chronic testicular dysfunction in stallions. **Plos One** 12:1–21.

Rizzoto G, Kastelic JP (2020) A new paradigm regarding testicular thermoregulation in ruminants? **Theriogenology** 147:166–175.

Rodrigues NN et al. (2020) Ultrasonographic characteristics of the testes, epididymis and accessory sex glands and arterial spectral indices in peri- and post-pubertal Nelore and Caracu bulls. **Animal Reproduction Science** 212:106235.

Romanello N, et al. (2018) Thermoregulatory responses and reproductive traits in composite beef bulls raised in a tropical climate. **International journal of biometeorology** 62:1575-1586.

Schaefer AL, Cook N, Tessaro SV, Deregt D, Desroches G, Dubeski PL, Tong AKW, Godson DL (2004) Early detection and prediction of infection using infrared thermography. **Canadian Journal of Animal Science** 84:73–80.

Verstegen J, Iguer-Ouada M, Onclin K (2002) Computer assisted semen analyzers in andrology research and veterinary practice. **Theriogenology** 57:149–79.

Vicentini RR, Montanholi YR, Veroneze R, Oliveira AP, Lima ML, Ujita A, El Faro L (2020) Infrared thermography reveals surface body temperature changes during proestrus and estrus reproductive phases in Gyr heifers (*Bos taurus indicus*). **Journal of Thermal Biology** 92:102662.

Wood MM, Romine LE, Lee YK, Richman KM, O'Boyle MK, Paz DA, Chu PK, Pretorius DH (2010) Spectral Doppler Signature Waveforms in Ultrasonography: A Review of Normal and Abnormal Waveforms. **Ultrasound Quarterly** 26:83–99.

Yeste M, Bonet S, Rodríguez-Gil JE, Del Álamo MMR (2018) Evaluation of sperm motility with CASA-Mot: Which factors may influence our measurements?. **Reproduction, Fertility and Development** 30:789–98.