

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA
FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS BOTUCATU

**EFEITOS DE DIFERENTES MÉTODOS DE CASTRAÇÃO SOBRE
A FUNÇÃO TESTICULAR, CARACTERÍSTICAS DE CARÇA E
DOR EM NOVILHOS ZEBUÍDOS**

PAULO HENRIQUE YAMADA

Botucatu – SP

Maio/2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA
FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS BOTUCATU

**EFEITOS DE DIFERENTES MÉTODOS DE CASTRAÇÃO SOBRE
A FUNÇÃO TESTICULAR, CARACTERÍSTICAS DE CARÇA E
DOR EM NOVILHOS ZEBUÍDOS**

PAULO HENRIQUE YAMADA

Tese apresentada a Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para o Exame Geral de Defesa do curso de Doutorado em Biotecnologia Animal.

Orientadora: Profa. Dra. Eunice Oba
Coorientador: Prof. Dr. Ricardo Velludo
Gomes de Soutello

Botucatu – SP
Maio/2019

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: LUCIANA PIZZANI-CRB 8/6772

Yamada, Paulo Henrique.

Efeitos de diferentes métodos de castração sobre a função testicular, características de carcaça e dor em novilhos zebuínos / Paulo Henrique Yamada. - Botucatu, 2019

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Eunice Oba

Coorientador: Ricardo Velludo Gomes de Soutello

Capes: 50504002

1. Cirurgia veterinária. 2. Testículos - Cirurgia. 3. Dor. 4. Termografia.

Palavras-chave: Castração; Dor ; Termografia; Testículo.

Nome do autor (a): Paulo Henrique Yamada

Título: EFEITOS DE DIFERENTES MÉTODOS DE CASTRAÇÃO SOBRE A FUNÇÃO TESTICULAR, CARACTERÍSTICAS DE CARCAÇA E DOR EM NOVILHOS ZEBUÍÑOS.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Eunice Oba

Presidente e Orientadora

Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária- FMVZ-
UNESP, Botucatu/SP.

Profa. Dra. Fabiana Ferreira de Souza

Membro

Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária- FMVZ-
UNESP, Botucatu/SP.

Prof. Dr. Marcelo Mungai Chacur

Membro

Departamento de Reprodução Animal - UNOESTE, Presidente Prudente/SP.

Prof. Dr. Felipe Rydygier de Ruedigier

Membro

Departamento de Reprodução Animal - UNOESTE, Presidente Prudente/SP.

Profa. Dra. Patrícia Aparecida Cardoso Luz

Membro

Faculdade de Ciência e Tecnologia Animal, FCAT- UNESP, Dracena/SP.

Data da defesa: 31 de Maio 2019

“Mil cairão ao teu lado, e dez mil à tua direita, mas não chegará a ti”

Salmos 91:7

Dedico ao meu avô, Silvado Rodrigues de Assis...

Diante de toda a sua doença, aceitar que perdemos um pai para toda a nossa família, conselheiro e líder em todas as ocasiões. Nunca pensei que o gosto dessa ausência teria um sabor tão amargo assim em nossas vidas.

Quanto ao meu amor por você, “Ahaaa” esse se manterá eterno.

AGRADECIMENTOS

Sempre achei o agradecimento a pior parte de escrever, difícil expressar tudo o que viveu e passou durante esse período que não se coloca em análise de regressão, cada pessoa que passou por esses anos tem seu valor nesta trajetória.

Gostaria de começar agradecendo a Deus por me iluminar e guiar por toda a minha trajetória turbulenta. Não poderia deixar de agradecer a Nossa Senhora Aparecida, que está sempre ao meu lado, me guiando e fazendo-me tirar forças de onde eu não tinha. Amém.

AOS MEUS FAMILIARES

Agradeço aos meus pais, Izabel e Paulo, meu infinito obrigado. É nosso 2018 não foi um ano muito bom, passamos por crises, doenças e perdas não esperadas “uma das nossas bases familiar”, peço desculpa por sempre estar longe nas horas de felicidades e dificuldades, mais os estudos sempre me afastaram do nosso grande ninho. Como um bom filho eu nunca pensei em retornar a casa, queria passar em um concurso e seguir a minha vida formando uma família e acompanhando vocês de longe, vi que o dinheiro e qualquer outra coisa não compram a felicidade de estar perto de vocês, ontem eram meus pais e hoje os chamo de meus velhos. Passamos por provas difíceis esse ano, mais com a graça de Deus tudo está se normalizando e a nossa “grande base”, está sem dor. Uma palavra que vem a minha cabeça quando penso em vocês, GRATIDÃO.

As minhas irmãs Larissa (Mana), Sabrina (Bina), obrigado por sempre me apoiar acreditando nos meus sonhos, não tenho nem palavras para agradecer tudo que já fizeram e faz por mim, como eu sempre falo amigos somos nós irmãos, o resto são colegas. AMO vocês.

Agradeço também a melhor parte de mim, meu sobrinho João Pedro, o qual trouxe felicidade para a nossa casa. Sei que para um ciclo se iniciar, outro precisa finalizar, creio que o Biso está muito feliz cuidando de você lá de cima.

Ao meu cunhado Claiton (Barriga), por sempre discordar concordando e falando se quer ir vai, Obrigado.

A MINHA ORIENTADORA

Professora Dra. Eunice Oba, a qual não mediu esforços para tornar meu projeto

escrito uma realidade, sempre me guiando pelo melhor jeito com conselhos e dicas de mãe. Só tenho a agradecer pela oportunidade de poder trabalhar na sua equipe e por sempre estar presente em nossas vidas acadêmicas, meu muito obrigado.

AO MEU COORIENTADOR

Professor Dr. Ricardo Velludo Gomes de Soutello, por ceder o local do experimento e os animais, agradeço pelas dicas e ajuda quando precisei, obrigado.

AOS PROFESSORES DO DEPARTAMENTO DE REPRODUÇÃO ANIMAL

Professora Dra. Fabiana Ferreira de Souza, por sempre estar de portas abertas para as dúvidas, obrigado por ser minha coorientadora mesmo não sendo a oficial. Fica aqui o meu eterno obrigado.

Professor Dr. João Carlos Pinheiro Ferreira, obrigado por confiar a mim seus materiais de trabalho e sempre disposto a contribuir em partes do meu experimento, fico muito feliz em saber que a Unesp tem professores competentes, humanos, e de um coração enorme.

AOS AMIGOS E COMPANHEIROS DE EXPERIMENTO

Quero começar com essa frase que eu gosto muito. Os amigos são anjos que nos deixam em pé quando nossas asas se esquecem como voar.

É como disse Vinicius de Moraes: “Você não faz amigos, você os reconhece”.

Obrigado por tudo Kel.

Felipe Rydygier de Ruediger, meu irmão que o doutorado deu, só tenho que agradecer todo o apoio, ideias, ajudas e o principal a sua amizade. Obrigado por correr nos piores momentos do meu experimento e me acalmar quando tudo parecia perdido. Nunca mediu esforços para andar quilômetros noite a fora e trabalhar o dia todo me ajudando, sempre me auxiliando e dando dicas. Fica aqui o meu eterno obrigado, irmão.

Vivis, Famosa Viviane Maria Codognoto da reprodução, uma menina, moça e mulher, de uma força invejável. Faz muito homens passar vergonha no curral em, gostaria de agradecer por também perder dias de serviço no laboratório e sair correndo quando eu mais precisei, me ajudando nas horas mais difíceis do meu experimento. Meu muito obrigado.

Aline Aranha e Patrícia Luz, duas pessoas fantásticas que a Unesp Dracena me

presenteou durante a minha curta passagem por lá, quero agradecer essas pessoas por não medir esforços na reta final e me ajudar quando eu mais precisei, meu muito obrigado.

À Viviane Vallejo, meu muito obrigado por me ajudar com a estatística nessa reta final, um príncipe precisando dos seus cuidados a todo momento e você se dispôs a me ajudar nessa reta final, meu muito obrigado.

Gostaria de agradecer os funcionários da fazenda aonde eu passei os 7 meses do meu experimento trabalhando, sempre me ajudando nos melhores e piores momentos do dia, Mauricio e Bira. Obrigado.

Ao Guilherme Rizzoto que chegou nos últimos 45 minutos do ultimo tempo e ajudou a finalização dos artigos com outra visão, meu muito obrigado GUI.

A minha namorada que teve toda a paciência nesses últimos dias de estresse em minha vida, te amo.

Aos amigos que diretamente ou indiretamente me ajudaram de alguma forma fica aqui meu muito obrigado, a galera da Unesp Dracena, vocês são fudas. Aos amigos de pós-graduação meu muito obrigado pela ajuda sempre.

Agradeço também a J.A Saúde Animal por ter disponibilizado os medicamentos utilizados durante o experimento, meu muito obrigado.

A CAPES

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, obrigado pela bolsa concedida durante o doutorado.

Sumário

INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	4
REVISÃO DE LITERATURA.....	4
1. <i>Importância da castração</i>	4
1.2. <i>Influência da castração sobre a qualidade da carne</i>	6
1.3. <i>Benefícios da castração em relação ao comportamento animal e qualidade da carne</i>	6
1.4. <i>Idade da castração</i>	7
1.5. <i>Métodos de castração</i>	8
1.6. <i>Castração cirúrgica</i>	9
1.7. <i>Imunocastração (imunização ativa contra GnRH)</i>	11
1.8. <i>Castração química</i>	12
1.9. <i>Termografia</i>	13
1.10. <i>Testosterona</i>	14
1.11. <i>Cortisol</i>	14
OBJETIVO.....	14
REFERÊNCIAS	15
CAPÍTULO 1.....	22
ARTIGO 1	23
Abstract	24
1. Introduction.....	25
2. Material and methods.....	26
2.1. <i>Ethical aspects</i>	26
2.2. <i>Animals, castration and collection</i>	26
2.3. <i>Images evaluation</i>	27
2.4. <i>Hormonal assays</i>	28
2.5. <i>Data analysis</i>	28
3. Results.....	29
4. Discussion	30
5. Acknowledgments.....	33
6. References	33

CAPÍTULO 2.....	40
ARTIGO 2	43
Introdução	46
Material e Métodos	47
Aspectos éticos	47
Local, animais e manejo	47
<i>Delineamento experimental</i>	48
Métodos de castração	48
<i>Castração cirúrgica</i>	48
<i>Castração química</i>	49
<i>Castração imunológica</i>	49
<i>Exame andrológico</i>	49
<i>Análise estatística</i>	50
Resultados.....	50
Discussão	54
Conclusão.....	57
Referências.....	57
CAPÍTULO 3.....	61
ARTIGO 3	81
ABSTRACT	82
RESUMO	83
INTRODUCTION.....	83
MATERIAL AND METHODS	85
<i>Animals</i>	85
<i>Castration methods</i>	85
<i>Assessment of body weight</i>	86
<i>Body condition scoring</i>	86
<i>Evaluation of the quality of meat and carcass</i>	86
<i>Statistical analyzes</i>	87
RESULTS AND DISCUSSION	87
CONCLUSION	91

CONSIDERAÇÕES FINAIS	96
----------------------------	----

RESUMO

YAMADA, P.H. EFEITOS DE DIFERENTES MÉTODOS DE CASTRAÇÃO SOBRE A FUNÇÃO TESTICULAR, CARACTERÍSTICAS DE CARCAÇA E DOR EM NOVILHOS ZEBUÍNOS. Botucatu - SP. 2019, p.97. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

Resumo

O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da castração cirúrgica, química e imunológica sobre as características espermáticas, morfometria e termografia testicular, concentração testosterona e avaliação da expressão facial durante o ato da castração. Para isso, foram utilizados 80 novilhos da raça Nelore com aproximadamente 20 meses de idade, contemporâneos, oriundos do mesmo rebanho, mantidos a pasto, com suplementação durante o período experimental até atingirem o peso de 480 kg para o abate. Os novilhos foram divididos em 4 grupos (n=20/grupo) homogêneos conforme o peso. Os tratamentos consistiram em três métodos de castração, sendo eles: orquiectomia (ORQ); químico (QUI); imunológico (IMUN); e o grupo controle, sem castração (CONT). Na QUI, foram injetados em cada testículo, 15 mL de CaCl 40% associado a 0,5% DMSO, após bloqueio anestésico regional e local. no procedimento para a IMUN foram aplicados 1mL/animal de Bopriva® (Zoetis, São Paulo, SP, Brasil), por via subcutânea, em três aplicações (D-30, D0 e D90). Sete dias antes dos tratamentos foram realizados o exame andrológico. Os animais foram abatidos no D220. Os resultados mostram que, a avaliação (CE) e volume testicular, não foi observado diferença estatística significativa no momento D0. Já no momento D15, o grupo químico apresentou um aumento quando comparado aos grupos imunológico e controle. Nos momentos D60 e D150 notaram-se diferenças quando se compara o grupo controle ao grupo imunológico, sendo que houve uma diminuição da CE e volume testicular no grupo imunológico. Na concentração, o grupo imunológico apresentou maior concentração em relação ao grupo químico no momento D15. A motilidade foi menor no grupo imunológico quando comparada ao grupo controle no momento D60. Já os parâmetros volume, (número de espermatozoides totais) e vigor não apresentaram diferenças significativas, e avaliação de patologia espermática se manteve igual entre os grupos durante todo momento. Já na testosterona, quando comparado aos outros níveis entre os momentos dentro de cada grupo, diferenças foram observadas no grupo imunológico no momento D15, sendo que no grupo cirúrgico e químico observou-se diferença estatística no momento D0 com maiores concentração de testosterona quando comparado aos momentos D15, D60 e D150, além disso, no momento D0, não se observou diferença estatística entre os grupos, com exceção do grupo imunológico ($P < 0.05$), porém tal observação é causa da primeira aplicação da vacina no D-30. Em relação à avaliação termográfica testicular não se observou diferenças estatísticas em nenhum momento, conclui-se que o método de castração imunológico é uma alternativa viável que suprime a produção de testosterona e ocasionando atrofia testicular, além de ser um procedimento menos invasivo favorecendo o bem-estar e diminuindo o estresse.

Palavras-chave: Castração, Testículo, Dor e Termografia.

ABSTRACT

YAMADA, P.H. EVALUATION OF SPERMAL PRODUCTION, TESTICULAR MORPHOMETRY AND STRESS IN HONEY CASTRATED BY SURGICAL, CHEMICAL AND IMMUNOLOGICAL METHODS. Botucatu - SP. 2019, p.97.

Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

Abstract

The aim of this project was to evaluate and compare the surgical, chemical and immunological methods of castration in cattle, and to verify the impact of each method on sperm production and testicular morphometry. For this purpose, 80 Nelore calves with approximately 20 months old, from the same herd, kept on pasture, were used during the experimental period until reaching a slaughter weight of 480 kg. The animals were divided into 4 groups (n = 20 / group) homogeneous according to weight. The treatments consisted of three methods of castration: orchiectomy (ORQ); chemical (QUI); immunological (IMUN); and the control group, non-castrated (CONT). In the QUI, 15 mL of 40% CaCl associated with 0.5% DMSO were injected into each testicle, after regional and local anesthetic block. In IMUN, 1mL / animal of Bopriva® (Zoetis, São Paulo, SP, Brazil) was applied subcutaneously in three applications (D 30, D0 and D90). The andrological exam was performed seven days before the treatments. The animals were slaughtered on the D220. The results show that, in the evaluation (EC) and testicular volume, no statistically significant difference was observed at time D0. At the time D15, the chemical group presented an increase when compared to the immunological and control groups. At the concentration, the immunological group presented higher concentration in relation to the chemical group at time D15. Motility was lower in the immunological group when compared to the control group at the time D60. On the other hand, the parameters volume, number of spermatozooids in ejaculate and vigor did not present significant differences, and sperm pathology evaluation remained the same between groups at all times. In testosterone, when compared to the other levels between the moments within each group, differences were observed in the immunological group a statistically significant difference was observed in the D0 moment with higher testosterone levels when compared to the D15, D60 and D150 moments; in addition, at the D0 moment, there was no statistical difference between the groups, except for the immunological group ($P < 0.05$). ological group at the D15 moment, being that in the surgical and chemical group but this observation is the cause of the first application of the vaccine in the D-30. Regarding the testicular thermographic evaluation, no statistical differences were observed at any time, it is concluded that the method of castration is a viable alternative that suppresses the production of testosterone and causes testicular atrophy, besides being a less invasive procedure favoring well-being and reducing stress.

Keywords: Castration, Testicle, Pain and Thermography.

INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O Brasil, em 2017 fechou o ano com um rebanho bovino total de 221,81 milhões de cabeças, com 39,2 milhões de cabeças de gado abatidas, o volume equivalente de carcaça produzida chegou a 9,71 milhões de toneladas, sendo que do total de carne produzida, 20% foi exportada e 80% destinado a abastecer o mercado interno, garantindo um consumo de cerca de 37,5 kg de carne bovina per capita (CNA BRASIL, 2017)

A castração de machos bovinos destinados ao abate é uma prática tradicionalmente utilizada nos diversos modelos de criação. A castração cirúrgica é a técnica mais utilizada no Brasil e possui como desvantagens a susceptibilidade a infecções parasitárias e bacterianas dificultando a cicatrização. Ademais, é um método estressante e doloroso, que torna os animais debilitados, pode provocar hemorragias e, em casos extremos, a morte, tornando-se assim uma técnica contraditória na questão de bem-estar animal (BONNEAU; ENRIGHT, 1995; CARROLL; FORSBERG, 2007). As castrações química e imunológica são pouco estudadas nos bovinos, porém com resultados promissores, apesar de não haver estudos conclusivos e comparativos sobre a influência destes métodos na produção de carne.

A qualidade da carne é maior em animais castrados, apesar da castração ser uma técnica cruenta, promover estresse e muitas vezes morbidade do rebanho. Em vista disso, novos métodos de castração, incluindo a química e imunológica tem sido testado, a fim de reduzir estes fatores, embora poucos estudos conclusivos indiquem os efeitos destes métodos sobre o ganho de peso, viabilidade econômica, qualidade da carcaça e da carne, justificando este estudo.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da castração cirúrgica, química e imunológica sobre as características espermáticas, morfometria e termografia testicular, concentração testosterona e avaliação da expressão facial durante o ato da castração.

REVISÃO DE LITERATURA

1. *Importância da castração*

Castrar ou não bovinos se remete a uma questão política que depende muito das exigências do mercado consumidor, e o relacionando à indústria frigorífica (FEIJÓ,

1998).

Geralmente, animais inteiros apresentam uma deficiência de cobertura de gordura em sua carcaça, esse fator leva a mesma a ter um maior escurecimento da parte externa dos músculos durante o resfriamento e interferindo no seu aspecto normal, fazendo com que seu valor comercial seja depreciado (RESTLE et al., 1994). Todas esses, tem estimulado a indústria frigorífica a solicitar a castração.

Animais não cadastrados apresentam características de crescimento mais rápido, quando comparados aos castrados, tem um melhor aproveitamento do alimento consumido, produzindo carcaças com mais carne e menor porcentagem de gordura, entretanto, animais castrados apresentam uma carcaça de melhor qualidade (SEIDEMAN et al., 1982).

No Brasil, uma prática comum entre os produtores do centro-oeste e norte é a terminação de animais não-castrados, com intuito de melhorar a conformação (expressão muscular) da carcaça, na maioria dos rebanhos com genes *Bos indicus*. Alguns autores relatam as vantagens da não-castração, quando comparado aos castrados, quanto à eficiência nutricional de transformar alimento em ganho de peso (GERRARD et al., 1987; RESTLE et al., 1994; RESTLE et al., 2000; RESTLE & VAZ, 2003).

Em estudo desenvolvido por Warwick et al. (1970), foi demonstrado que animais não castrados apresentaram taxa de ganho de peso corpóreo de 23%, conversão alimentar de 16% e 12% de músculo no contrafilé, sendo superiores aos animais castrados. Já Muller e Restle (1983), observaram as mesmas características que o estudo anterior, e que o indicativo de maior massa muscular foi acentuado pelo efeito anabolizante dos hormônios testiculares.

Ao analisar os aspectos quantitativos da carcaça de machos castrados e não castrados abatidos aos 14 meses de idade, Restle e Vaz (1997) verificaram semelhança entre peso vivo e rendimento de carcaça de ambos tratamentos. Entretanto, os machos não castrados tiveram peso da carcaça superior, apresentando 214 kg de peso em carcaça quente e 2017 kg fria, já em animais castrados os valores foram de 195 kg e 190 kg, respectivamente. O estudo mostrou ainda que o comprimento de carcaça, de perna, de braço, espessura de coxão e área do músculo *Longissimus dorsi* foram semelhantes, independente se castrados ou não. E que em novilho, as carcaças com melhor conformação e maior porcentagem de dianteiro foram dos animais não castrados, enquanto que os castrados, apresentaram um maior potencial de produção para cortes comerciais.

1.2. Influência da castração sobre a qualidade da carne

Para o consumidor, a carne bovina precisa ter duas características importantes na hora da compra, sendo elas: aparência e palatabilidade. A maciez, é sem dúvida o parâmetro de qualidade que mais interfere na aceitação do produto pelo consumidor, mesmo a qualidade da carne seja de natureza multifatorial. (CROSS et al., 1978).

Dentre os diversos fatores que podem influenciar a qualidade e maciez da carne estão, idade de abate, raça, alimentação e tratamentos *post-mortem* (eletroestimulação, condição de resfriamento da carcaça e processo de maturação). Em estudo sobre a relação à idade do abate, PROST et al. (1975), puderam observar que o fator idade incide negativamente sobre a maciez da carne, devido às modificações estruturais que ocorrem no colágeno com o envelhecimento.

Os criadores procuram na maioria das vezes abater bovinos mais jovens, no entanto, esta prática pode gerar animais desprovidos de gordura subcutânea, comprometendo a qualidade da carne, principalmente no que se refere à maciez, pois a mesma está diretamente ligada ao processo de resfriamento acelerado, antes de se estabelecer o “rigor mortis”, a falta dessa gordura subcutânea promove o encurtamento dos sarcômeros, tendo como consequência o endurecimento da carne (KOOHMARAIIE et al., 1988).

Em um estudo desenvolvido no início da década de 90, recomendava-se que a carne bovina apresentasse de 3 a 4% de gordura intramuscular, sugerindo ainda que esta percentagem não garanta uma ótima qualidade da carne, entretanto, quando combinada a um adequado tratamento *post-mortem*, resultaria em carne de boa qualidade (FELÍCIO, 1990).

A carcaça ideal foi descrita por BERG et al. (1978), segundo eles, a mesma deve apresentar uma proporção maior de músculos, teor de ossos deve ser menor, e a gordura em proporção adequada com as características anteriores, entretanto, deve-se produzir a carne de acordo com a exigência do mercado consumidor, em relação a quantidade de gordura.

1.3. Benefícios da castração em relação ao comportamento animal e qualidade da carne

Ao longo dos anos, a castração de animais de produção tem sido uma ferramenta bastante utilizada, visando diminuir a reprodução indiscriminada e comportamento agressivo. Um dos fatores em se adotar o procedimento é a diminuição com problemas de manejo associados com agressividade e comportamentos sexuais, e consequentemente diminuir a incidência de carnes com coloração escurecida. Bovinos machos inteiros tendem a produzir carne com menor consistência, baixo marmoreio e cortes menos macios. Além disso, carcaças de touros são comercializadas por preços mais baixos no mercado, quando comparado com as carcaças de bois (STAFFORD & MELLOR, 2005).

Um fator de extrema importância relacionado a qualidade da carne, é a idade do animal, pois ela modifica as características sexuais secundárias alterando a composição corporal do animal. Bovinos não castrado tende a ter maior proporção do dianteiro e menor deposição de gordura, e sua carne tende a ter menor aceitação no mercado, estas características também podem acontecer quando este método é realizado tardiamente. É importante escolher o melhor método de orquiectomia, sempre levando em consideração aspectos relacionados à época do ano, idade e aos sistemas de produção (ABBÁ, 2012).

A castração após da puberdade melhora em muitos aspectos a qualidade da carne, pode-se dizer que ela poderia ser utilizada como uma alternativa para tirar proveito das taxas mais rápidas de crescimento dos bovinos CROSS et al., 1978).

1.4. Idade da castração

A castração de animais ainda é uma ferramenta que gera muitas dúvidas, principalmente quanto à idade ou à época de realizá-la. A idade pode variar desde o nascimento do bezerro até poucos meses antes do abate (RESTLE et al., 1994).

A castração logo após ao nascimento apresenta como principal desvantagem a não utilização do efeito anabólico dos hormônios produzidos nos testículos. Retardar a época do desmame pode coincidir com um período estressante para esses animais, e a proximidade da época de restrição alimentar. A prática da castração de bovinos aos 12 ou mais meses de idade tem inconvenientes como, manejo mais difícil, causando grande estresse, além do risco da perda de animais de valor considerável. A realização da castração até a fase da puberdade não apresenta diferença quanto ao desempenho animal, já as castrações realizadas após a puberdade apresentam ganhos relativamente pequenos devido às dificuldades de manejo e a riscos gerados (SILVA, 2000).

O risco de perda por hemorragia em bezerros recém-nascido é pequeno, o uso de

antissépticos e cicatrizantes com função larvicida é mínimo, com custo operacional baixo, isto quando comparado ao gasto e esforço hora/homem realizado com animais maiores. Ao castrar animais acima de 18 meses, gasta-se mais tempo com manuseio, além de risco maiores com acidentes. Em animais jovens o tempo de cicatrização ocorre em no máximo uma semana (FEIJÓ et al., 2000).

Em um estudo realizado por Cosgrove et al. (1996), pode-se verificar que independente da época em que a castração for realizada, ou seja, quanto mais tardia maior será o peso final, os autores ainda relatam que os animais castrados desenvolveram carcaças semelhantes à do grupo controle (inteiros) no peso relativo dos principais cortes cárneos quando abatidos precocemente, aos 22 meses de idade (COSGROVE et al., 1996). Ao avaliar as características de carcaças de bovinos de corte castrados à “faca”, com uso de emasculador para secção do cordão espermático, e animais não castrados em diferentes idades, foram utilizados 65 machos, mestiços Charolês X Zebu, sob quatro tratamentos, sendo eles: castração aos 45 dias; aos 8 meses de idade; aos 12 meses de idade e controle (não castrados). Ressaltando que todos os animais receberam o mesmo manejo alimentar e sanitário. Pode-se verificar que as características não foram influenciadas pela idade à castração, os animais controles depositaram menor quantidade de gordura de cobertura, apresentaram maiores pesos de carcaças ao abate que os castrados com 1,5 mês, e comprimento maior de carcaça, independentemente da idade em que foram submetidos a orquiectomia, animais castrados aos 45 dias apresentaram menor perímetro de braço e pior conformação. Concluindo que, animais não castrados apresentam carcaças mais pesadas e de melhor conformação que os castrados nas primeiras semanas, porém sendo deficientes em gordura de cobertura, e não identificando alterações as características de carcaça em relação a idade (RESTLE et al., 1994).

1.5. Métodos de castração

Os métodos de castração podem ser classificados em três grupos: físicos, químicos e hormonais, podendo ser divididos pela técnica, que em geral é realizada pela remoção cirúrgica dos testículos, ou por meio de danificação irreversível que acarreta a morte dos tecidos ou levando-os a atrofia (MOREIRA, 2013).

São muitas as discussões a respeito de qual método de castração é mais eficaz nos diferentes criatórios de produção, devido as circunstâncias de aplicação, e até mesmo a preferência do cliente, que deve ser considerada na escolha da técnica a ser utilizada. No

entanto, considera-se como melhor método, ou de eleição aquele que resultar em complicações mínimas no pós-operatório, menor estresse no animal, e consequentemente um maior ganho em peso na fase de recuperação do pós-operatório. Existem diversas complicações que podem ocorrer após a castração, sendo as mais corriqueiras o edema, miíases, retenção de coágulos, e as de menor ocorrência como hemorragia e formação de granuloma (SILVA et al., 2001).

Outro método de castração utilizado é com o auxílio do emasculador, o mesmo tem por objetivo romper o cordão espermático e os vasos sanguíneos que suprem os testículos, para que haja uma degeneração testicular por falta de circulação sanguínea local. Este método não proporciona diferenças quanto ao desempenho animal, ou rendimento de carcaça (RC), quando comparado a castração à faca. Entretanto, pode-se observar que o desempenho dos animais inteiros é superior ao dos castrados, independentemente do método de castração (NEUMANN; SNAPP, 1969).

Em 2011 o mercado das vacinas desenvolveu um fármaco (vacina), sem atividade hormonal, química, ou período de carência, com capacidade de provocar uma imunocastração nos animais. Porém, ainda há uma preocupação se a mesma pode ser considerada o melhor método a ser utilizado. Deste modo, é sabido que uma das formas de avaliar se o efeito da castração tem sido satisfatório, é devido ao efeito sobre a cobertura de gordura necessária para a proteção da carcaça contra o frio, no processo de armazenamento (RODRIGUES et al., 2013).

Os efeitos da castração ainda é uma técnica que requer muitos estudos (PÁDUA et al., 2004), devido a influências de outros fatores. Deste modo, é de extrema importância saber qual o método a ser empregado, proporcionando assim, ações que permitam maior desfrute do rebanho, e consequentemente maior produção de carne, visando o aumento no rendimento econômico do produtor, a produtividade e a qualidade da carne.

1.6. *Castração cirúrgica*

No Brasil, a técnicas de castração animal mais utilizada é realizada por meio de intervenção cirúrgica, na qual há total remoção dos testículos através de duas incisões laterais na bolsa escrotal, ou por meio da remoção do ápice do escroto, por ablação (SILVA et al., 2003). Um dos grandes destaques ao citar este método, está relacionado as principais e piores características provocadas pelo mesmo, sendo elas: a dor e estresse fisiológico, esses fatores que devem ser minimizados de acordo com a AVMA (2012),

devido ao bem-estar dos animais.

Dentro da castração cirúrgica a orquiepidectomia bilateral, consiste na retirada dos testículos por meio cirúrgico, é considerado um método cruento que pode provocar eventuais riscos à saúde do animal, devido a susceptibilidade a contaminação por microrganismos, e infestações por larvas de moscas (ABBÁ, 2012).

Outro método de castração, consiste no uso da faca associada ao uso do emasculador para a secção do cordão espermático, o mesmo pode resultar em sangramento, reduzir o ganho de peso diário durante o processo de cicatrização. É sabido que o estresse gerado pela castração com faca em bezerros desmamados, colocados em confinamentos resulta em uma maior susceptibilidade às doenças infecciosas (ZWEIACHER et al., 1979).

A castração cirúrgica pode trazer impactos negativos aos pecuaristas que adotam está técnica em seu sistema de produção. Em estudo avaliando às complicações apresentadas por 500 bovinos no pós-operatórias no método de castração por ablação ou incisão lateral da bolsa escrotal, pode-se constatar que 14,8% apresentaram miíase, 1,8% hemorragia, 3,8% funiculite, 5,4% abscesso, 1,6% granuloma e 0,4% óbito. O estudo ainda mostra o impacto negativo provocado no ganho de peso nos primeiros 28 dias pós-castração, resultando em perda de peso em 34,6% dos animais neste período, em uma das propriedades estudadas (CARVALHO et al., 2011).

A grande desvantagem dos métodos cirúrgicos de castração fica por conta do processo de cicatrização, o clima pode gerar uma influência inconveniente, devido à alta incidência de moscas dependendo da estação do ano, acarretando problemas como miíases. Entretanto, desde de que o método tradicional à faca seja realizado sob condições higiênicas, ocorra um bom processo hemostático, a mesma é a forma mais eficiente de castração para animais maiores (FEIJÓ, 1997).

A castração Russa também é um método de castração que necessita de intervenção cirúrgica, nele ocorre a remoção parcial do parênquima testicular, permanecendo o epidídimo, túbulo testicular e parte do tecido conjuntivo do parênquima. Nesta técnica é feita uma pequena incisão na extremidade caudal da cutis escrotal, e então, por meio de pressão manual é removido o parênquima testicular, manter as estruturas que secretam hormônios sexuais e impedir a espermatogênese é a principal característica de visão desta técnica. O idealizador desta técnica de castração afirma em sua pesquisa que obteve um desenvolvimento corporal nos animais, semelhantes a resultados obtidos em pesquisas com animais não castrados e comportamento similar aos castrados (BARBURTSYAN,

1964).

1.7. *Imunocastração (imunização ativa contra GnRH)*

O método da imunocastração é técnica desenvolvida para servir como alternativa a castração convencional. A mesma consiste em uma tecnologia que promove a castração do animal, sem as desvantagens promovidas pelo método de castração convencional (PARANHOS DA COSTA et al., 2002).

Normalmente os bovinos atingem a puberdade por volta dos 11 aos 15 meses, passando por um aumento na produção de hormônios que iram definir suas características reprodutivas secundárias (JANETT et al., 2012; FRENEAU et al., 2006). Nesta fase o principal hormônio produzido é o GnRH, responsável por liberar gonadotrofinas (HAFEZ & HAFEZ, 2004). A indução de anticorpos mediante a imunização ativa do anti-GnRH, previne a liberação de gonadotrofinas, hormônio luteinizante (LH) e hormônio folículo estimulante (FSH) (FINNERTY et al., 1994).

A vacina de imunocastração contém uma forma modificada de GnRH conjugada a uma proteína, esta fórmula é capaz de estimular o sistema imunológico do animal a produzir anticorpos específicos contra o GnRH (ZAMARATSKAIA et al., 2007; ROBERTSON et al., 1979). Deste modo, o próprio sistema imune irá eliminar o GnRH, fazendo com que o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal seja interrompido na hipófise, todo esse processo ocorre devido uma barreira criada pelo próprio sistema imunológico. Essa supressão do GnRH, leva ao impedimento do estímulo da secreção de LH e FSH pela glândula pituitária, provocando a redução no desenvolvimento dos testículos, síntese de hormônios esteroides e espermatogênese (OONK et al., 1998; ADAMS, 2005; CLAUS et al., 2007; BAUER et al., 2008; PAULY et al., 2009; ZANELLA et al., 2009).

A vacina (Zoets Saúde Animal) tem por mecanismo de ação, provocar a imunização utilizando anti-GnRH, seu princípio ativo consiste em estimular o sistema imunológico a produzir anticorpos que inibam diretamente a função do GnRH. A inibição promove a neutralização temporária do GnRH, reduzindo a secreção da testosterona, involução testicular e interrupção da espermatogênese, reduzindo então, o comportamento agressivo e sexual. O protocolo da vacinação consiste na aplicação de duas doses da mesma, a primeira dose atua sensibilizando o sistema imunológico do bovino, que produzirá efeito somente após a segunda dose (reforço), administrada entre 4 a 12 semanas (ROBERTSON et al., 1979).

O desempenho zootécnico dos animais imunocastrados é intermediário quando

comparado a animais não castrados e castrados cirurgicamente (BONNEAU e ENRIGHT, 1995; RIBEIRO et al., 2004; ROÇA et al., 2011). Ao avaliar a eficácia da vacina de imunocastração em relação a qualidade da carcaça de animais imunocastrados, castrados cirurgicamente e não castrados, foram observados que, os animais imunocastrados e castrados cirurgicamente apresentaram marmorização e porcentagem de gordura na carcaça com melhor evidência, quando comparados aos animais não castrados (RIBEIRO et al., 2004).

1.8. Castração química

A castração química vem ganhando destaque, por ser utilizado a condenados à pena de morte por crimes sexuais (PONTELI e SANCHES JR., 2011). Este método faz uso de qualquer fármaco que induza, ou promova à castração, imunoesterilização e terapias hormonais, limitando a libido. O mesmo tem por característica gerar inflamação, fibrose e dano físico definitivo às estruturas do aparelho reprodutor masculino, principalmente nos ductos deferentes, epidídimos e nos testículos, causando como consequência a redução da espermatogênese e concentração sérica de andrógenos (KUTZLER e WOOD, 2006). Este método é caracterizado como irreversível, proporcionando uma velocidade mais rápida de recuperação quando comparado aos demais métodos de castração (COHEN et al., 1990; EMIR et al., 2008; AHMED e AL-BADRANY, 2009).

Em um estudo testando o uso ácido láctico, aplicado intratesticular pode-se verificar sua eficácia na castração de bovinos, camundongos e cães, já apresentando resultados satisfatórios 24 horas após a aplicação (NISHIMURA et al., 1992). Já em outro estudo, agora com caprinos, foi constatado que as doses de 1 a 3 ml/10 kg de ácido láctico provoca à infertilidade definitiva nestes animais (OKWEE-ACAI et al., 2008).

Ao utilizar este método para a castração de bezerros, com injeção intratesticular de solução de ácido láctico, pode-se observar que o mesmo provocou maior sensação de dor do que o método cirúrgico, foi relatado também, vazamento da droga em 25% dos bezerros, que desenvolveram necrose escrotal pós tratamento. Pode-se verificar que o método não influenciou o crescimento dos animais, porém foi constatado que a administração de ácido láctico não é alternativa mais adequada para castração de bezerros (FORDYCE et al., 1989).

A castração química mostra vantagens quando campara a castração cirúrgica, em

animais mantidos em sistema de criação intensivo pode-se verificar menor trauma no pós-operatório, conseguem atingir o peso de abate semelhante aos animais não castrados e apresentam maior produção de carne (MOURA e LUCHIARI FILHO, 1996).

1.9. Termografia

Melhorias nos índices reprodutivos são necessárias principalmente em machos, visto sua utilização tanto para a monta natural como para a inseminação artificial (RUEDIGER et al., 2016), com o intuito de uma produção espermática com alta qualidade, sendo fundamental o conhecimento da fisiologia e avaliação andrológica destes animais (KASTELIC, 2014).

Em bovinos submetidos a um aumento da temperatura testicular foi observado redução da motilidade espermática e no número de espermatozoides produzidos, além do aumento de espermatozoides anormais (KASTELIC et al., 2001; BRITO et al., 2004). Já se sabe que a termorregulação testicular é um fator crucial para a manutenção da qualidade espermática, sendo esta responsável por manter a temperatura testicular entre 4 a 5° C abaixo da superfície corpórea (GARIBALDI, WOLF, 2002). A ação do calor gera um aumento de temperatura e metabolismo testicular, resultando em alterações nas células germinativas (células de Leydig e Sertoli) o que ocasiona diminuição no volume e na qualidade espermática, além de diminuir a capacidade fecundante do espermatozoide (SETCHELL, 1998; BRITO et al., 2004).

A termografia infravermelha é uma técnica não invasiva que mostra a distribuição da temperatura sobre a superfície avaliada em seu estado fisiológico ou em situações patológicas (MAC MANUS et al. 2006; NAAS et al., 2014). Tem sido empregada no diagnóstico de estresse ocasionado pelo ambiente visto pelas mudanças no fluxo sanguíneo com aumento de temperatura local (LUZI et al., 2013; NAAS et al., 2014); em processos inflamatórios, sendo útil na detecção de quadros de laminite e mastite em vacas leiteiras (KUNC et al., 2007; ALSAAOD et al., 2014), além de ser utilizada para avaliar aspectos qualitativos e quantitativos em espermatozoides de touros durante uma estação quente. (MENEGASSI, et al., 2015).

A termografia é uma técnica rápida e eficiente para a detecção de alterações de temperatura escrotal, refletindo o comprometimento de estruturas subjacentes como testículos e epidídimos, sendo um método indireto para avaliação andrológica podendo ser utilizada como um exame complementar (SETCHELL, 1998; MAC MANUS et al., 2006). Assim esta avaliação.

1.10. Testosterona

Nos machos a testosterona é um hormônio fundamental na reprodução, atuando no estágio final da espermatogênese, estimula o crescimento dos animais e prolonga a vida dos espermatozoides no epidídimo, ajuda no desenvolvimento dos órgãos sexuais dos machos, manifestando suas características sexuais, segundo Hafez (2004).

Nos animais jovens a testosterona é um ótimo indicador de fertilidade por correlacionar, puberdade a idade (POST; CHRISTENSEN; SEIFERT, 1987).

A castração imunológica é utilizada na fase de terminação em animais de produção, para impulsionar a utilização na conversão alimentar e ganho de peso em bovinos de corte (FREITAS et al., 2008).

1.11. Cortisol

O cortisol é um tradicional marcador de avaliação para sofrimento e dor (BRETSCHNEIDER, 2005). O cortisol tem uma resposta a agentes estressores logo após o processo (STAFFORD, MELLOR, 2005a; STAFFORD et al., 2002). Podendo chegar em torno de 45 a 129nmol/L, dirigido pelo ato da castração em bovinos (MELLOR, STAFFORD, 2000).

Por existir uma variação nos níveis séricos individuais por animal, o cortisol pode não ser um bom marcador para avaliação de dor, pois em qualquer contenção pode ocasionar um desvio fisiológico (STAFFORD et al., 2002). Fato esse comprovado em bovinos que foram submetidos a diferentes métodos de castração, observaram que animais com um limiar de dor mais elevados tiveram os níveis séricos mais baixos de cortisol. Contudo, o cortisol ainda é uma avaliação feita em bovinos para a resposta sobre o estresse (COETZEE et al., 2008).

OBJETIVO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da castração cirúrgica, química e imunológica sobre as características espermáticas, morfometria e termografia testicular, concentração de testosterona e avaliação da expressão facial durante o ato da castração.

REFERÊNCIAS

- ABBÁ, M. G.; FELICIANO, M. A. R.; VICENTE, W. R. R. Características da carcaça e qualidade da carne de bezerros submetidos à orquiectomia por métodos de castração Russa e com Burdizzo. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 9, n. 18, p. 12, 2012.
- ADAMS, T. E. Using gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and GnRH analogs to modulate testis function and enhance the productivity of domestic animals. **Animal Reproduction Science**, v. 88, p. 127-139, 2005.
- AHMED, O. S.; AL-BADRANY, M. S. **Chemical castration in equidae**. Mosul: College of Veterinary Medicine, University of Mosul, 2009.
- ALSAAOD, M.; SYRING, C.; DIETRICH, J.; DOHERR, M.G.; GUJAN, T.; STEINER, A.A. A field trial of infrared thermography as a non-invasive diagnostic tool for early detection of digital dermatitis in dairy cows. **Vet. J.** v. 199, p. 281-285, 2014.
- ANUALPEC 94. **Anuário estatístico da pecuária de corte**. São Paulo: FNP, 1994.
- AVMA - AMERICAN VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION. **Welfare Implications of castration of cattle** Disponível em: <https://www.avma.org/KB/Resources/LiteratureReviews/Pages/castration-cattle-bgnd.aspx>. Acesso em: 27 nov. 2018.
- BARBURTSYAN, A. A. **A new method of increasing livestock productivity**. Jerusalem: Program for Scientific Translation, 1964.
- BAUER, A.; LACORN, M.; DANOWSKI, K.; CLAUS, R. Effects of immunization against GnRH on gonadotropins, the GH-IGF-I-axis and metabolic parameters in barrows. **Animal**, v. 2, suppl. 8, p. 1215-1222, 2008.
- BERG, R. T.; BUTERFIELD, R. M. **New concepts of cattle growth**. Sidney: Sidney University Press, 1976. 240 p.
- BONNEAU, M.; ENRIGHT, W. J. Immunocastration in cattle and pigs. **Livestock Production Science**, v. 42, n. 2, p. 193-200, 1995.
- BRETSCHNEIDER, G. Effects of age and method of castration on performance and stress response of beef male cattle: a review. **Livestock Production Science**, v.97, p.89-100, 2005.
- BRITO, L.F.C.; SILVA, A.E.D.F.; BARBOSA, R.T.; KASTELIC, J.P. 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**, v. 61, p. 511-528, 2004.
- CARVALHO, F. S. R.; SILVA, C. R.; HOE, F. Impacto da castração cirúrgica no ganho de peso e estado clínico de bovinos de corte. **A Hora Veterinária**, v. 30, n. 179, p. 18-21, 2011.

CLAUS, R.; LACORN, M.; DANOWSKI, K.; PEARCE M. C.; BAUER, B. Short-term endocrine and metabolic reactions before and after second immunization against GnRH in boars. **Vaccine**, v. 25, p. 4689-4696, 2007.

COETZEE, J.F.; LUBBERS, B.V.; TOERBER, S.E.; GEHRING, R.; THOMSON, D.U.; WHITE, B.J.; APLEY, M.D., Plasma concentrations of substance P and cortisol in beef calves after castration or simulated castration. **American Journal of Veterinary Research**, v.69, p.751-762, 2008.

COHEN, R. D. H.; KING, B. D.; THOMAS, L. R.; JANZEN, E. D. Efficacy and stress of chemical versus surgical castration of cattle. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 70, p. 1063-1072, 1990.

CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL (CNA). **Bovinocultura de corte: balanço 2017**. Brasília: CNA, 2017. Disponível em: <https://www.cnabrazil.org.br/assets/arquivos/bovinocultura_corte_balanco_2017.pdf>. Acesso em: 27 nov. 2018.

COSGROVE, G. P.; KNIGHT, T. W.; LAMBERT, M. G.; DEATH, A. F. Effects of post-pubertal castration and diet on growth rate and meat quality of bulls. **Proceeding New Zealand Society of Animal Production**, v. 56, p. 390-393, 1996.

COSTA, N. A.; MOURA CARVALHO, L. O. D.; LOURENÇO-JÚNIOR, J. B.; TEIXEIRA-NETO, J. F.; SANTOS, N. F. A.; MONTEIRO, E. M. M. Ponderal performance of buffaloes chemically castrated, in Belém, Pará State, Brazil. In: BUFFALO SYMPOSIUM OF AMERICAS, 1., 2002, Belém, PA. **Proceedings...** Belém: APCB; FCAP, 2002.

CROSS, H. R.; MOEN, R.; STANFIELD, M. S. Training and testing judges for sensory analysis of meat quality. **Food Technology**, v. 32, n. 7, p. 48-54, 1978.

EMIR, L.; DADALI, M.; SUNAY, M.; EROL, D.; CAYDERE, M.; USTÜN, H. Chemical castration with intratesticular injection of 20% hypertonic saline: a minimally invasive method. **Urologic Oncology**, v. 26, p. 392-396, 2008.

FEIJÓ, G. L. D. Castração de bovinos de corte: a decisão é do produtor. **Gado de Corte Divulga**, n. 22, p. 1-4, 1997.

FEIJÓ, G. L. D. **Castração de bovinos de corte: a decisão é do produtor**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 1998.

FEIJÓ, G. L. D.; SILVA, J. M.; THIAGO, L. R. L. S. Produção e qualidade da carne de vacas de descarte. Características das carcaças de vacas em confinamento sob diferentes níveis de concentrado. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37., 2000, Viçosa, MG. **Resumos...** Viçosa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2000. p. 476.

FELÍCIO, P. E. **Tipificação de carcaça bovina**. Uberaba: Associação Brasileira de

criadores de Zebu (ABCZ), 1990. 8 p.

FORDYCE, G.; HODGE, P. B.; BEAMAN, N. J.; LAING, A. R.; CAMPERO, C.; SHEPHERD, R. K. An evaluation of calf castration by intra testicular injection of a lactic acid solution. **Australian Veterinary Journal**, v. 66, n. 9, p. 272-276, 1989.

FINNERTY, M.; ENRIGHT, W. J.; MORRISON, C. A.; ROCHE, J. F. Immunization of bull calves with a GnRH analogue-human serum albumin conjugate: effect of conjugate dose, type of adjuvant and booster interval on immune, endocrine, testicular and growth responses. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 101, n. 2, p. 333-343, 1994.

FREITAS, A.D.; RESTLE, J.; PACHECO, P.S.; PADUA, J.T.; LAGE, M.E.; MIYAGI, E.S.; SILVA, G.D. Características de carcaças de bovinos Nelore inteiros vs castrados em duas idades, terminados em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.1055-1062, 2008.

FRENEAU, G. E.; VALE FILHO, V. R.; MARQUES JÚNIOR, A. P.; MARIA, W. S. Puberdade em touros Nelore criados em pasto no Brasil: características corporais, testiculares e seminais e de índice de capacidade andrológica por pontos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 6, p. 1107-1115, 2006.

GABALDI, S. H.; WOLF, A. A importância da termorregulação testicular na qualidade do sêmen em touros. **Ciência Agrária e Saúde, Andradina**, v. 2, n. 2, p. 66-70, 2002.

GERRARD, D. E.; JONES, S. J.; ABERLE, E. D. Collagen stability, testosterone secretion and meat tenderness in growing bulls and steers. **Journal of Animal Science**, v. 65, p. 1236-1242, 1987.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. **Reprodução animal**. 7. ed. São Paulo: Manole, 2004. 513 p.

JANETT, F.; GERIG, T.; TSCHUOR, A. C.; AMATAYAKUL-CHANTLER, S.; WALKER, J.; HOWARD, R.; BOLLWEIN, H.; THUN, R. Vaccination against gonadotropin-releasing factor (GnRF) with Bopriva significantly decreases testicular development, serum testosterone levels and physical activity in pubertal bulls. **Theriogenology**, v. 78, p. 182-188, 2012.

KASTELIC, J. P.; COOK, R. B.; PIERSON, R. A.; COULTER, G. H. Relationships among scrotal and testicular characteristics, sperm production, and seminal quality in 129 beef bulls. **Canadian Journal of Veterinary Research, Ottawa**, v. 65, n. 2, p. 111-115, 2001.

KASTELIC, J. P. Understanding and evaluating bovine testes. **Theriogenology**, Philadelphia, v. 81, n. 1, p. 18- 23, 2014.

KOOHMARAIE, M.; SEIDEMAN, S. C., CROUSE, J. D. Effect of subcutaneous fat and high temperature conditioning on bovine meat tenderness. **Meat Science**, v. 23, p. 99-109, 1988.

KUNC, P.; KNÍZKOVÁ, I.; PRIKRYL, M.; MALOUN, J. Infrared thermography as a tool to study the milking process: a review. **Agricultura Tropica et Subtropica**, v. 40,

n. 1, p. 29-32, 2007.

KUTZLER, M.; WOOD, A. Non-surgical methods of contraception and sterilization. **Theriogenology**, v. 66, p. 514-525, 2006.

LUZI, F.; MITCHELL, M.; COSTA, L.N.; REDAELLI, V. Thermography: Current Status and Advances in Livestock Animals and in Veterinary Medicine. Brescia Foundation, 2013.

MCMANUS, C.; TARUNE, C.B.; PERIPOLLI, V.; SEIXAS, L.; FISCHER, V., GABBI, A.M.; MENEGASSI, S.R.O.; STUMPF, M.T.; KOLLING, G.J.; DIAS, E.; JUNIOR, J.B.G.C. Infrared thermography in animal production: **An overview. Computers and Electronics in Agriculture**, v. 123, p. 10-16, 2016.

MELLOR, D.J.; STAFFORD, K.J., Acute castration and/or tailing distress and its alleviation in lambs. **New Zealand Veterinary Journal**, v.48, p.33-43, 2000.

MENEGASSI, S.R.O.; BARCELLOS, J.O.J.; DIAS, E.A.; KOETZ, C.; PEREIRA, G.R.; PEPIROLI, V.; MCMANUS, C.; CANOZZI, M.E.A.; LOPES, F.G. Scrotal infrared digital thermography as a predictor of seasonal effects on sperm traits in Braford bulls. **Int. J. Biometeorol.** v. 59, n. 3, p. 357-364, 2015.

MOREIRA, A. D. **Métodos de castração de machos Aberdeen Angus X Nelore terminados em pastagem**. 2013. 72 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Jaboticabal, 2013.

MOURA, A. C.; LUCHIARI FILHO, A. Castração. **Revista Pecuária de Corte**, v. 6, n. 56, p. 45-47, 1996.

MÜLLER, L.; RESTLE, J. Carcass characteristics of steers and Young bulls. In: EUROPEAN CONGRESS OF MEAT RESEARCHER WORKERS, 29., 1983, Parma. **Proceedings...** Parma: Salsomaggiore, 1983. p. 530-531.

NAAS, I.A.; GARCIA, R.G.; CALDARA, F.R. Infrared thermal image for assessing animal health and welfare. **J. Anim. Behav. Biometeorol.** v. 2, n. 3, p. 66-72, 2014.

NEUMANN, A. L.; SNAPP, R. R. **Beef cattle**. 6. ed. New York: John Wiley & Sons, 1969. 767 p.

NISHIMURA, N.; KAWATE, N.; SAWADA, T.; MORI, J. Chemical castration by a single intratesticular injection of lactic acid in rats and dogs. **Journal of reproduction and development**, v. 38, p. 263-266, 1992.

OKWEE-ACAI, J.; OJOK, L.; ACON, J. Testicular morphologic and hormonal responses to an intratesticular injection of lactic acid for induction of chemosterilisation in adult mubende goats. **African Journal of Animal Biomedical Science**, v. 3, p. 5-11, 2008.

OONK, H. B.; TURKSTRA, J. A.; SCHAAPER, W. M. M.; ERKENS, J. H.; SCHUITMAKER-DE WEERD, M. H.; VAN NES, A. VERHEIJDEN, J. H.; MELOEN, R. H. New GnRH-like peptide construct to optimize efficient

immunocastration of male pigs by immunoneutralization of GnRH. **Vaccine**, v. 16, p. 1074-1082, 1998.

PÁDUA, J. T.; MAGNABOSCO, C. U.; SAINZ, R. D. Genótipo e classe sexual no desempenho e nas características de carcaça de bovinos de corte superjovens. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 6, p. 2330-2342, 2004.

PARANHOS DA COSTA, M. J. R.; CHIQUITELLI NETO, M.; COSTA E SILVA, E. V.; ROSA, M. S. Contribuição dos estudos de comportamento de bovinos para implementação de programas de qualidade de carne. In: ENCONTRO ANUAL DE ETOLOGIA, 20., 2002, Natal. **Anais...** Natal: Sociedade Brasileira de Etologia, 2002. p. 71-89.

PAULINO, P. V. R.; VALADARES FILHO, S. C.; DETMANN, E.; VALADARES, R. F. D.; FONSECA, M. A.; VÉRAS, R. M. L.; OLIVEIRA, D. M. Desempenho produtivo de bovinos Nelore de diferentes classes sexuais alimentados com dietas contendo dois níveis de oferta de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 6, p. 1079- 1087, 2008.

PAULY, C.; SPRING, P.; O'DOHERTY, J. V.; AMPUERO KRAGTEN, S.; BEE, G. Growth performance, carcass, characteristics and meat quality of group-penned surgically castrated immunocastrated (Improvac®) and entire male pigs and individually penned entire male pigs. **Animal**, v. 3, n. 7, p. 1057-1066, 2009.

POST, T. B.; CHRISTENSEN, H. R.; SEIFERT, G. W. Reproductive performance and productive in beef bulls selected for different leves of testosterone response to GnRH. **Theriogenology**, New York, v. 27, n. 2, p. 317- 328, 1987.

PROST, M. E.; PELCZYNSKA, E.; KOTULA, A. W. Quality characteristics of bovine meat. II Beef tenderness in relation to individual muscles, ages and sex of animals and carcass quality grade. **Journal of Animal Science**, v. 41, n. 2, p. 514-547, 1975.

RESTLE, J.; ALVES FILHO, D. C.; FATURI, C. Desempenho na fase de crescimento de machos bovinos inteiros ou castrados de diferentes grupos genéticos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 4, p. 1036-1043, 2000.

RESTLE, J.; GRASSI, C. Efeito da idade de castração sobre as características de carcaça de bovinos de corte. In: REUNIÃO ANUAL DA SBZ, 27., 1991, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: SBZ, 1991. p. 420.

RESTLE, J.; GRASSI, C.; FEIJÓ, G. L. D. Características de carcaça de bovinos de corte inteiros ou castrados em diferentes idades. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 29, n. 10, p. 1603-1607, 1994.

RESTLE, J.; GRASSI, C.; PEROBELLI, Z. V. Composição física da carcaça de bovinos de corte inteiros ou submetidos a duas formas de castração. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECHNIA, 30., 1993, Rio de Janeiro. **Anais...** Niterói: SBZ, 1993. p. 192.

RESTLE, J.; VAZ, F. N. Aspectos quantitativos da carcaça de machos Hereford. Inteiros

e castrados, abatidos aos quatorze meses. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 32, n.10, p. 1091-1095, 1997.

RESTLE, J.; VAZ, F. N. Eficiência e qualidade na produção de carne bovina. *In*: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2003. CD- ROM.

RIBEIRO, E. L. A.; HERNANDEZ, J. A.; ZENELLA, E. L.; SHIMOKOMAKI, M.; PRUDENCIO-FERREIRA, S. H.; YOUSSEF, E.; RIBEIRO, H. J. S. S.; BOGDEN, R.; REVEES, J. J. Growth and carcass characteristics of pasture fed LHRH immunocastrated, castrated and intact Bos indicus bulls. **Meat Science**, v. 68, p. 285-290, 2004.

RODRIGUES, M. C.; OLIVEIRA, H. S.; VICARI, D. V. F.; SOUSA, O. A.; ANTONIOLI, M. R.; SOUTELLO, R. V. G. Efeitos dos diferentes tipos de castração em bovinos de corte. *In*: SIMPÓSIO DE CIÊNCIAS DA UNESP, ENCONTRO DE ZOOTECNIA DA UNESP, ENCONTRO DE ENGENHARIA AGRÔNOMICA DA UNESP, 9., 2013, Dracena. **Anais...** Dracena: Unesp, 2013. p. 4.

ROBERTSON, D. M.; PURI, V.; LINDBERG, M.; DICZFALUSY, E. Biologically active luteinizing hormone (LH) in plasma. V. A re-analysis of the differences in the ration of biological to immunological LH activities during the menstrual cycle. **Acta Endocrinologica**, 92, 615-626, 1979.

RUEDIGER, F.R.; CHACUR, M.G.M.; ALVES, F.C.P.E.; OBA, E.; RAMOS, A.A. Digital infrared thermography of the scrotum, semen quality, serum testosterone levels in Nellore bulls (*Bos taurus indicus*) and their correlation with climatic factors. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 37, n. 1, p. 221-232, 2016.

SEIDEMAN, S. C.; CROSS, H. R.; OLTJEN, R. R.; SCHANBACHER, B. D. Utilization of the intact male for red meat production: a review. **Journal of Animal Science**, v. 44, n. 4, p. 826-840, 1982.

SETCHELL, B.P. The Parkes Lecture. Heat and the testis. **J Reprod Fertil**. v. 114, n. 2, p. 179-194, 1998.

SILVA, L. A. F.; FILHO, P. R. L. V.; ALMEIDA, C. F.; RABELO, R. E.; FIORAVANTI, M. C. S.; EURIDES, D. Complicações pós-operatórias em bovinos submetidos a duas técnicas de orquiectomia. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, 4., 2001, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande, 2001. p. 140.

SILVA, L. A. F.; VIANA FILHO, P. R. L.; VERISSIMO, A. C. C.; SILVA, E. B.; SILVA, O. C.; PÁDUA, J. T.; RABELO, R. E.; TRINDADE, B. R.; SOUSA, J. N. Efeito da estação do ano, da idade, do método de contenção e da técnica cirúrgica na recuperação clínica e no ganho de peso de bovinos submetidos à orquiectomia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 4, n. 1, p. 18-29, 2003.

SOLIS, C. S. A tipificação das carnes na gestão da qualidade total. **A Hora Veterinária**, v. 92, p. 66 -71, 1996.

STAFFORD, K.J.; MELLOR, D.J.; TODD, S.E.; BRUCE, R.A.; WARD, R.N. Effects

of local anaesthesia or local anaesthesia plus a non-steroidal anti-inflammatory drug on the acute cortisol response of calves to five different methods of castration. **Research in Veterinary Science**, v.73, p.61-70, 2002.

STAFFORD, K. J.; MELLOR, D. J. The welfare significance of the castration of cattle: a review. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 53, p. 271-278, 2005.

STAFFORD, K.; MELLOR, D. Dehorning and disbudding distress and its alleviation in calves. **The Veterinary Journal**, v.169, p.337-349, 2005a.

WARWICK, E. J.; PUTNAM, P. A.; HINER, R. L. Effect of castration on performance and carcass characters of monozygotic bovine tiwins. **Journal of Animal Science**, v. 31, n. 2, p. 296-301, 1970.

ZAMARATSKAIA, G.; RYDHMER, L.; ANDERSSON, H. K.; CHEN, G.; LOWAGIE, S.; ANDERSON, K.; LUNDSTROM, K. Long –term effect of vaccination against gonadotropin-releasing hormone, using Improvac™, on hormonal profile and behavior of male pigs. **Animal Reproduction Science**, v. 108, n. 29, p. 37-48, 2007.

ZANELLA R.; ZANELLA, E. L.; REEVES, J. J.; HERNANDEZ, J.; MOTTA, A. C.; AVILA, D. Características testiculares de touros imunizados com vacina anti-hormônio liberador do hormônio luteinizante. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 10, p. 1359-1363, 2009.

ZWEIACHER, E. R.; DURHAM, R. M.; BOREM, B. D.; GASKINS, C. T. Effects of method and time of castration of feeder calves. **Journal of Animal Science**, v. 9, n. 1, p. 5-9, 1979.

CAPÍTULO 1

ARTIGO 1

Artigo redigido e submetido de acordo com as normas da revista Applied Animal Behaviour Science, com exceção da disposição da figura.
<https://jasbsci.biomedcentral.com/submission-guidelines/preparing-your-manuscript>

Assessment of pain by facial expression of the bulls during castration

Paulo Henrique Yamada *,¹, Viviane Maria Codognoto¹, Felipe Rydygier de Ruediger²,
Pedro Henrique Esteves Trindade¹, Guilherme Rizzoto³, Sirlei Aparecida Maestá⁴, João
Carlos Pinheiro Ferreira¹, Ricardo Velludo Gomes de Soutello⁴, Eunice Oba¹

¹Department of Animal Reproduction and Veterinary Radiology, School of Veterinary Medicine and Animal Science, São Paulo State University, Botucatu, São Paulo, Brazil.

²Department Animal Science, University of Oeste Paulista, Presidente Prudente, São Paulo, Brazil.

³Faculty of Veterinary Medicine, Department of Production Animal Health, University of Calgary, Calgary, AB, Canada.

⁴Department of Animal Science and Technology, UNESP – São Paulo State University, Dracena-SP, Brazil.

Corresponding author at: Department of Animal Reproduction and Veterinary Radiology, Faculty of Veterinary Medicine, FMVZ, São Paulo State University (UNESP), Botucatu, São Paulo, Brazil.

*E-mail address: paulinhoyamada@hotmail.com (Paulo Henrique Yamada)

25 **Abstract**

26
27 Castration of beef bulls has been intensely discussed in the last years. Castrated animals
28 have a higher fat layer deposition in the carcasses. In bovine, the castration can be
29 performed surgically, chemically or immunological intervention, which can influence
30 the animal welfare in different ways, especially regarding the aspect of pain. Facial
31 characteristic is an efficient tool to quantify the pain. However, there are scarce
32 informations if castration methods constitute different pain stimuli. We investigated the
33 facial action units (AUs) to characterize the pain and serum cortisol concentration in 3
34 castration methods (surgical, chemical and immunological castration) of the 42 Nelore
35 bulls. In general, we observed that the immunological method caused decreased
36 expression of body language associated with pain, while the surgical group presented the
37 higher expression. There was no significative difference of the cortisol serum
38 concentration in the groups. We concluded that the immunological castration is a method
39 which maintain animal welfare. Moreover, the facial characteristics during pain stimuli
40 in surgical castration indicated that there is an association between the exhibition of the
41 facial AUs and the pain and this tool can be used in the field, due its praticity and easy
42 execution.

43

44 **Keywords:** reactivtiy, facial expression, pain, orchiectomy, cortisol

45

46

47

48

49

50

51 **1. Introduction**

52 Body language has been used to assess the animal pain. Facial characteristics
53 represent one of the most reliable signs of the animal pain condition when compared to
54 other body language parameters (Descovich et al., 2017). In fact, in the last years, facial
55 tension and contraction have been studied in several species, as rodents (Langford et al.,
56 2010), lagomorphs (Keating et al., 2012), swine (Di Giminiani et al., 2016), sheep
57 (Guesgen et al., 2017; Mclennan et al., 2017), equine (Dalla Costa et al., 2014; Glerup
58 et al., 2015b; Van Loon; Van Dierendonck, 2015; Mullard et al., 2017) and cattle (Glerup
59 et al., 2015a).

60 Facial expression to assess pain can be an efficient tool applied to the field, which
61 can be further considered in the development of future methods of identification of
62 aversive stimulus (Müller et al., 2014; Müller, 2015). The establishment of new non-
63 invasive methods of pain evaluation, with lower cost and easy performance can allow a
64 better efficacy on the pain evaluation in animals (Flecknell and Roughan, 2004). Several
65 pain scales have already been described in bovines, including the facial characteristics
66 and using an invasive surgical procedure (Glerup et al., 2015a) and this pain evaluation
67 method already was validated and is considered reliable to bovine (Bertagnon et al.,
68 2018).

69 Castration (orchiectomy) is one of the surgical procedures most used to the field
70 in cattle production, which is related with pain. However, the method presents as
71 complications hemorrhage, granuloma, funiculitis, abscess and myiasis (Brito et al.,
72 2011). Thus, non-surgical methods such as chemical and immunological castration were
73 developed as an alternative to the surgical procedure, with the objective to suppress the
74 activity of the testes with less pain, at least for a period of time (Moreira et al., 2015) until
75 slaughter. These methods are considered an alternative to surgical castration, which

76 reduce the cost and promote animal welfare (Von Borell et al., 2009). However, there is
77 scarce study reporting if the surgical, chemical and immunological castration represent
78 different pain stimulus. Then, the aim of this study was to investigate which castration
79 method bring on increase pain in cattle using a simple scale.

80

81 **2. Material and methods**

82 *2.1. Ethical aspects*

83 Procedures with the animals were performed accordingly to the ethical principles
84 in animal experimentation determined by the Institutional Ethics Commision for Animal
85 Use (CEUA), protocol n° 178/2016.

86 *2.2. Animals, castration and collection*

87 Forty two Nelore bulls were used (mean age 20 ± 2 months and weight ~400 kg).
88 During the study the animals were kept in pasture (*Urochloa decumbens*) with *ad libitum*
89 access to water and receiving a daily supplement (1 kg/calf) of concentrate (85.12%
90 craked corn, 9.17% soy meal, 3.57% mineral salt, 1.43% urea and 0.71% limestone). To
91 study, the animals were separated in 3 groups, according to the castration method as
92 follows, surgical (n = 12), chemical (n = 15) and immunological (n = 15).

93 Before the castration the animals were fasted, feed and water for 6 and 4 h,
94 respectively. Then, the bulls were restrained in a squeeze chute, the scrotum was washed
95 with water and soap and dried with absorbant paper. Pre-operative skin disinfection was
96 performed using povidone-iodine, and regional anesthesia was administrated using 10 mL
97 of lidocaine chlorhydrate in each spermatic cord and in the incision line (distal region of
98 the testes) (Pereira et al., 2013).

99 To surgical procedure, open castration was conducted, using an incision in the
100 *tunica vaginalis* and ligation of spermatic cord with n° 2 chromic catgut tie. After the

101 procedure, the surgical wound was cleaned with saline (0.9% NaCl), povidone-iodine and
102 topical repellant was used. All bull from received also anti-inflammatory (1 mg/kg
103 diclofenac sodium, i.m.) and antibiotic (40.000 UI/kg penicillin G benzathine, i.m.)
104 therapy. All the animals were observed for 2 h after the surgical procedure to possible
105 bleeding.

106 To chemical castration, the same procedures used in the surgical approach were
107 adoped. After the skin disinfection, 10 mL of 40% CaCl₂ associated with
108 dimethylsulfoxyde (DMSO) were injected intratesticularly using 10 mL syringe and 30 X
109 8 mm needles (Dalla Costa et al., 2014). To inject the sclerosing agent in the center of the
110 testes, the needle was positioned in the medial region and introduced into the craniocaudal
111 direction. Therefore, the drug administration was performed in bolus, in each testis with
112 a single application.

113 Immunological castration was performed with 3 applications i.m. of 1 mL GnRH
114 analogue (Bopriva[®], Zoetis, São Paulo, SP, Brasil), interval 30 d between applications.

115 During the execution of each castration method the head of the animals were
116 filmed using a digital camera (Sony Hybrid DCR DVD 650, Flash Media Camcorder). In
117 immunological method, the bulls were evaluated in first application. Videos have the
118 duration of 1 min and captured pictures before, during and after the procedures. Facial
119 characteristics were evaluated in a freeze picture in which the focus was optimum. All
120 images were analyzed by the same blinded observer, to evaluate the UAs, including facial,
121 reactive and vocal expression.

122

123 2.3. Images evaluation

124 UAs evaluated associated with pain in cattle were eye closure or reduction of area
125 of the ocular globe with closed eyelids (Fordyce et al., 1982; Prkachin, 1992; Langford

et al., 2010); elevation of the eyebrows, observed by the tension above the area of the eyes, represented by the higher detailed observation of the subjacent bone structures above the eye (Langford et al., 2010); mouth, characterized by the increased tension on the muscles above the mouth with a preminence of the masticatory muscles (Prkachin, 1992; Langford et al., 2010); muzzle, evaluation of the increased area under cheeks, adopting a convex shape (Fordyce et al., 1982; Prkachin, 1992); reactivity, observing the degree of disturbance of the animal when handled in the chute, considering vigor, frequency of movements, breathing, tail movements and kicking (Sotocinal et al., 2011; Millman, 2013); vocalization, were analyzed all the audible sounds produced in the larynx, propagated by the resonant cavities, including mouth and nostrils (Amaral et al., 2017). Lastly, a new variable was created using the sum of all UAs.

2.4. Hormonal assays

Cortisol concentrations were measured by radioimmunoassay (Perkin Elmer, 1470 automatic gamma counter, Massachusetts, USA) using commercial solid phase kits (RIA Cortisol IM 1841 Bechman Coulter, California, USA) following the manufacturer's instructions. The sensitivity of the test for cortisol 0.04 ng/mL.

2.5. Data analysis

The statistical analysis was performed using the software R and its integrated component RStudio (Version 1.0.143 – © 2009-2016, RStudio, Inc.). For analysis, $P < 0.05$ was considered significant. Normality of the variables was analyzed for each group by the Shapiro-Wilk test. Furthermore, the lost data of 3 animals in the surgical castration group were estimated by the mean of the group for the variable cortisol, which presented a Gaussian distribution, while the others were estimated by the median once they are not normally distributed.

Differences between the experimental groups were analyzed by 3 tests according

151 to the variable characteristics. Therefore, the changes between the groups for the
152 dichotomic variables (all the UAs, reactive, vocal, muzzle, mouth, eye and above the eye)
153 were analyzed using the logistic regression, followed by a Tukey test to compare the
154 results between the groups.

155 For the evaluation of the increase or reduction of a non-parametric variable (sum
156 of UAs) between groups, the data was analyzed using the Kruska-Wallis test. However,
157 for the analysis of cortisol (parametric variable) an anova test was performed, followed
158 by a Tukey test as a post hoc test for the comparison between the groups.

159 Lastly, the gamma coefficient of Goodman-Kruskal was estimated for each of the
160 UAs and their sum.

161

162 **3. Results**

163 Considering the UAs used, only 4 (reactivity, muzzle, eye and above the eye) were
164 observed in all groups. In general, in surgical castration was observed increase pain
165 expression, followed by the chemical and immunological group (Table 1). There was no
166 difference for the concentration of cortisol between the groups surgical, chemical and
167 immunological (mean $\pm$ standard deviation: $49.9 \pm 10.9 \mu\text{g/dL}$, $40.2 \pm 21.0 \mu\text{g/dL}$ and
168 $53.0 \pm 31.7 \mu\text{g/dL}$, respectively).

169

170

171 **Table 1:** Median and amplitude (min – max) of the UAs in the experimental groups.

UAs	Castration method		
	Surgical	Chemical	Immunological
Reactivity	1 (1 – 1)	1 (0 -1)	0 (0 -1)
Vocalization	0 (0 -1)	0 (0 -1)	0 (0 -1)

Muzzle	1 (0 -1) ^a	1 (0 -1) ^a	0 (0 -1) ^b
Mouth	0 (0 -1)	0 (0 -1)	0 (0 -1)
Eye	1 (0 -1) ^a	1 (0 -1) ^{ab}	0 (0 -1) ^b
Above the eye	1 (0 -1) ^a	1 (0 -1) ^{ab}	0 (0 -1) ^b
Sum UAs	4 (3 -5) ^a	3 (1 - 5) ^b	1 (0 - 3) ^c

^{abc}Different letters indicate significant difference between the groups (P < 0.05)

Considering the experimental groups there was a high to moderate correlation between the UAs and the sum of the UAs (Table 2).

Table 2. Gama-coefficient of Goodman-Kruskal between each units of action (UAs) (reactivity, vocalization, muzzle, mouth, eye and above the eye) and the sum of the UAs.

	Surgical	Immune	Chemical	Grouped
Reactivity	--	0.85	0.29	0.87
Vocalization	0.92	--	0.30	0.70
Muzzle	0.80	-0.17	0.73	0.74
Mouth	0.00	--	0.71	0.68
Eye	1.00	1.00	0.96	0.97
Above the eye	1.00	1.00	1.00	0.98

(--) absent behavior

Furthermore, the only UAs that presented high correlation in all the experimental groups separtedly were for the eye and above the eye.

4. Discussion

Assessment of the pain using bovine face is considered a valuable tool for welfare.

186 Physical signs of pain are the most reliables, though they can vary between species, with
187 the pain stimulus and development stage (Langford et al., 2010; Prkachin, 1992; Sotocinal
188 et al., 2011).

189 The present study investigated which castration method presented increased pain
190 stimulus in cattle evaluated by pain facial expression. Based on the results of the three
191 UAs (muzzle, eye and above the eye), we can infer that the immunological method caused
192 decreased expression of body language associated with pain, while surgical and chemical
193 presented the increased expressions of pain, ensuring the method as tool to assessing the
194 pain.

195 Interestingly, the UA above the eye was present in the surgical and chemical
196 groups and absent in the immunological, demonstrating that this UA is related with mild to
197 severe pain. Similar results were observed by Müller (2015), studying the acute pain
198 markers in cattle subjected to iron branding. In the Müller's studies, several UAs were
199 observed, including ears kept backwards, dilated snout, open mouth, eyebrows lifted,
200 which demonstrated the association of UAs and acute pain stimulus. However, in human,
201 eyebrows lifted are associated with a semblance of worry and surprise (Du et al.,
202 2014), indicating that this is an expression of difficult interpretation if evaluated
203 individually, since it can be present as a characteristic of different emotions (Müller,
204 2015).

205 Regarding the observations for the eye, the same effect was observed in another
206 study (Bertagnon et al., 2018), which described for Holstein cattle that during surgical
207 castration 21.9% animals closed eyelids as a pain response, similarly to the observed for
208 the surgical and chemical groups in our study. Interestingly, another study in horses (Dalla
209 Costa et al. 2014), which were subjected to surgical castration and facial expression
210 evaluation, the closing of the eyelids, as in our study, was characterized as a marker of

211 mild to severe pain. Therefore, eyes alterations, exhibited in injured animals, are
212 described as important behavioral markers of the animal welfare (Currah et al., 2009).

213 Immunological method presented decreased frequency for the muzzle expression
214 suggesting that UA is expressed under decreased pain threshold. In cattle, the expression
215 of the muzzle has been association with acute pain stimulus, since Müller (2005) observed
216 the UA in 80% of the animals subjected to iron branding and in only 41% of the animals
217 subjected to simulation using a cold branding iron. Contrary, in calves did not observe
218 modification for muzzle expression after castration (Bertagnon et al., 2018). Interestingly,
219 using other animal models, as rat (Langford et al., 2010) and rabbits (Keating et al., 2012)
220 the muzzle expression was associated with severe pain stimulus.

221 Regarding the vocalization expression, there was no difference between the
222 groups, though was identified only in few animals from surgical and chemical groups.
223 Similar results were observed by Currah et al. (2009) during the castration of beef calves.
224 However, another study (Watts; Stookey, 2000), investigating responses and factors
225 associated with severe stress, such as castration and branding, concluded that the
226 vocalization should be considered a valid parameter and should be adopted in similar
227 evaluations. Opening of the mouth as a marker of pain was also observed in the chemical
228 and surgical groups, although there was no statistical difference. Muller et al. (2014)
229 associated the reaction of opening the mouth and exposing the tongue with a pain
230 stimulus, however the authors indicated that this parameter was not previously described
231 as a pain indicator in animals. Interestingly, in another study, the reaction of opening the
232 mouth was not observed after surgical castration of Holstein calves (Bertagnon et al.,
233 2018). Therefore, the reduced observation of vocalization and opening of the mouth in
234 the present study may indicate that the surgical and chemical castrations are procedures
235 mild pain and can be associated with individual threshold of pain.

Reactions can be influenced by the individual behavior of the animals, including also the previous background (Burrow, 1997). Moreover, it is considered an answer to the handling performed by the man (Burrow, 1997), which can vary between immobility and aggression (Rueda et al., 20098). The results of the present study indicate the presence of light reactivity, indicating non-severe pain stimuli in animals belonging to the surgical and chemical group. In dogs submitted to chemical castration, it did not observe reactions associated with pain stimuli, only there was an unremarkable reaction after the needle introduction into the scrotal skin (Oliveira, 2016). Similar results were described in bufalos (Martins et al., 2011).

There was no variation in serum cortisol concentration between the groups, similarly to the observed after branding with fire (Miller, 2015), and in calves after the castration (Stafford et al., 2002). Interestingly, in another study increased cortisol was observed 12 h after the castration of the calves (Bertagnon et al., 2018). Serum cortisol concentrations can be influenced by handling during the restraining for blood collection (Becker et al., 2012), what can explain the result observed in our study if we consider that the restraining process was identical for all the groups.

In conclusion, behavioral changes were mainly identified in the surgical castration than chemical and immune methods, which indicates that undoubtedly the surgical castration induces more pain. Vocalization and facial expressions can be considered alternatives to indicate the pain stimuli in cattle and can be an important tool to pain identification.

5. Acknowledgments

The authors thank CAPES for their financial support.

6. References

261 ABIEC. Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes. 2017.

262 Amaral, J.B., Pires, R.M.L., Ambrósio, L.A., Oliveira, F.A., Trevisan, G. 2017.

263 Expressão facial, vocalização e posturas anômalas em bovinos submetidos à

264 eletroejaculação convencional. pubvet. 11, 1074-1187. [http://](http://dx.doi.org/10.22256/pubvet.v11n11.1085-1097)

265 dx.doi.org/10.22256/pubvet.v11n11.1085-1097.

266

267 Becker, J., Doherr, M.G., Bruckmaier, R.M., Bodmer, M., Zanolari, P., Steiner, A. 2012.

268 Acute and chronic pain calves after different methods of rubbering castration. Vet. J.

269 194, 380-385. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.04.022>.

270 Bertagnon, H.G., Batista, C.F., Bellinazzi, J.B., Conegalian, M.M. Mendes, A.F., Della

271 Libera, A.M.M.P. 2018. Identificação de dor após orquiectomia em garrotes:

272 desenvolvimento de escala análogo visual em comparação a parâmetros fisiológicos,

273 padrões comportamentais e expressão facial. *pesq. vet. bras.* 38, 436–443. doi:

274 10.1590/1678-5150-pvb-5015.

275 Brito, T.R., Moura, M.S., Bueno, J.P.R., Carvalho, F.S.R. Silva, C.R. 2011. Principais

276 afecções que acometem bovinos pós-castração cirúrgica. *PUBVET.* 5, 153, Art. 1030,

277 2011.

278 Burrow, H.M. 1997. Measurements of temperament and their relationships with

279 performance traits of beef cattle. *Animal Breeding Abstracts.* 65: 477- 495.

280 Currah, J.M., Hendrick, S.H., Stookey, J.M. 2009. The behavioral assessment and

281 alleviation of pain associated with castration in beef calves treated with flunixin

282 meglumine and caudal lidocaine epidural anesthesia with epinephrine. *Can. Vet. J.* 50,

283 375-382. pmcid: pmc2657518.

284 Dalla Costa, E., Minero, M., Lebelt, D., Stucke, D., Canali, E., Leach, M.C. 2014.

285 Development of the Horse Grimace Scale (HGS) as a pain assessment tool in horses

286 undergoing routine castration. PLoS ONE. 9, 1-10.
 287 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092281>

288 Descovich, K., Wathan, J.W., Leach, M.C., Buchanan-Smith, H.M., Flecknell, P.,
 289 Farningham, D., Vick, S.J. 2017. Facial expression: An under-utilized tool for the
 290 assessment of welfare in mammals. ALTEX. 34, 409-429.
 291 doi:[10.14573/altex.1607161](https://doi.org/10.14573/altex.1607161)

292 Dias, A.M., Oliveira, L.B., Ítavo, L.C.V., Mateus, R.G., Gomes, E.N.O., Coca, F.O.
 293 do.C.G., Ítavo, C.C.B.F., Nogueira, e., Menezes, B.B., Mateus, R.G. 2016.
 294 Terminação de novilhos Nelore, castrados e não castrados, em confinamento com dieta
 295 alto grão. Rev. Bras. Saúde Prod. Anim. 17, 45-54. doi: 10.1590/s1519-
 296 99402016000100005

297 Dietz, O., Schaetz, F., Schleiter, H., Teuscher, R. 1985. Operaciones y anestesia de los
 298 animales grandes y pequeños. 2 ed. Zaragoza: Acribia.

299 Di Giminiani, P., Brierley, V.L., Scollo, A., Gottardo, F., Malcolm, E.M., Edwards, S.A.,
 300 Leach, M.C. 2016. The assessment of facial expressions in piglets undergoing tail
 301 docking and castration: Toward the development of the piglet grimace scale. Front.
 302 Vet. Sci. 3, 100. doi:[10.3389/fvets.2016.00100](https://doi.org/10.3389/fvets.2016.00100)

303 Du, S., Tao, Y., Martinez, A.M. Compound facial expressions of emotion. 2014. PNAS.
 304 2, 1-9. doi: [10.1073/pnas.1322355111](https://doi.org/10.1073/pnas.1322355111)

305 Flecknell, P.A., Roughan, J.V. 2004. Assessing pain in animals — putting research into
 306 practice. Animal Welfare. 3, 71-75. issn 0962-7286

307 Fordyce, G., Goddard, M.E., Seifert, G.W. 1982. The measurement of temperament in
 308 cattle and the effect of experience and genotype. Anim. Prod. 14, 329-332.

309 Glerup, K.B., Andersen, P. H., Munksgaard, L., Forkman, B. 2015a. Pain evaluation in
 310 dairy cattle. Appl. Anim. Behav. Sci. 171, 25-32. doi: 10.1016/j.applanim.2015.08.023

311 Gleerup, K.B., Forkman, B., Lindegaard, C., Andersen, P.H. An equine pain face.
 312 2015b. *Vet. Anaesth. Analg.* 42, 103-114. doi: 10.1111/vaa.12212.

313 Guesgen, M.J., Beausoleil, N.J., Leach, M., Minot, E.O., Stewart, M., Stafford, K.J.
 314 2016. Coding and quantification of a facial expression for pain in lambs. *Behav.*
 315 *Process.* 132, 49-56. doi: 10.1016/j.beproc.2016.09.010.

316 Keating, S.C., Thomas, A.A., Flecknell, P.A., Leach, M.C. 2012. Evaluation of EMLA
 317 cream for preventing pain during tattooing of rabbits: Changes in physiological,
 318 behavioural and facial expression responses. *PLoS One.* 7, 1-11.
 319 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044437>.

320 Langford, D.J., Bailey, A.J., Chanda, M.L., Clarke, S.E., Drummond, T.E., Echols, S.,
 321 Glick, S., Ingrao, J., Klassen-Ross, T., Lacroix-Fralish, M.L., Matsumiya, L., Sorge,
 322 R. E., Sotocinal, S.G., Tabaka, J.M., Wong, D., Van Den Maagdenberg, A.M.J.M.,
 323 Ferrari, M.D., Craig, K.D., Mogil, J.S. 2010. Coding of facial expressions of pain in
 324 the laboratory mouse. *Nature Methods.* 7, 447-449. doi: 10.1038/nmeth.1455

325 Martins, L.T., Gonçalves, M.C., Tavares, K.C.S., Gaudêncio, S. Santos Neto, P.C., Dias,
 326 A.L.G., Gava, A., Saito, M.E., Oliveira, C.A., Mezzalana, A., Vieira, A.D. 2011.
 327 Castration methods do not affect weight gain and have diverse impacts on the welfare
 328 of water buffalo males. *Livest. Sci.* 140, 171-176.
 329 <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2011.03.026>

330 Martins, I.C., Queiroz, H.P., Thiago, L.R.L., Garagorry, F.L., Costa, F.P. 2005. Sistemas
 331 de produção de gado de corte no Brasil: uma descrição com ênfase no regime alimentar
 332 e no abate. In: *Embrapa Gado de Corte.* 1-40. ISSN 1517-3747

333 McLennan, K.M., Rebelo, C.J., Corke, M.J., Holmes, M.A., Leach, M.C., Constantino-
 334 Casas, F. 2016. Development of a facial expression scale using footrot and mastitis as
 335 models of pain in sheep. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 176, 19-26.

336 <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2016.01.007>

337 Millman, S.T. 2013. Behavioral responses of cattle to pain and implications for diagnosis,
338 management and animal welfare. Vet. Clin. Food Anim. 29, 47-58. doi:
339 10.1016/j.cvfa.2012.11.007

340 Moreira, P.S.A., Lourenço, F.J., Lima, C.C., Faria, F.F. El Farra, Romero, N.B. 2015.
341 Desempenho produtivo e características de carcaça de bovinos Nelore submetidos a
342 diferentes métodos de castração. Revista Brasileira de Ciências Agrárias. 10, 570-575.
343 DOI:10.5039/agraria.v10i4a5150

344

345 Mullard, J., Berger, J.M., Ellis, A.D., Dyson, S. 2017. Development of an ethogram to
346 describe facial expressions in ridden horses (FEReq). J. Vet. Behav. 18, 7-12.
347 <https://doi.org/10.1016/j.jveb.2016.11.005>

348 Müller, B.R., Hammerschmidt, J., Feldens, C.S., Molento, C.F.M. 2014. Unidades faciais
349 de ação associadas à dor em bovinos de corte. In: Anais do III congresso brasileiro de
350 bioética e bem-estar animal Expandindo Horizontes.

351 Müller, B.R. 2015. Dor em bovinos na marcação a ferro quente: expressão facial, outros
352 indicadores comportamentais e fisiológicos e a percepção dos produtores. Dissertação
353 (Mestrado em Ciências Veterinária), Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

354 Oliveira, L.G. 2016. Método minimamente invasivo para castração de machos bovinos:
355 impactos sobre a dor e inflamação. 37f. Dissertação (Mestrado em Ciências) -
356 Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade
357 Federal de Pelotas, Pelotas.

358 Pereira, P.A.C., Ferreira, A.M., Carvalho, L.B., Verneque, R.S. Henry, M., Leite, R.C.
359 2013. Comparison of reproductive efficiency indexes by different methods in dairy
360 cattle herds. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 65, 1383-1388.

361 <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352013000500016>.

362 Prkachin, K.M. 1992. The consistency of facial expressions of pain: a comparison across
363 modalities. *Pain*. 51, 297-306. [http://dx.doi.org/10.1016/0304-3959\(92\)90213](http://dx.doi.org/10.1016/0304-3959(92)90213)

364 RStudio Team, 2016. RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston,
365 MA. URL <http://www.rstudio.com/> (accessed 5 July 2017).

366 Rueda, P.M. 2009. Alterações Comportamentais E Hematológicas Em Vacas Nelore
367 Submetidas À Protocolo De Inseminação Artificial Em Tempo Fixo. Dissertação
368 (Mestre em Ciência Animal), Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo
369 Grande.

370 Stafford, K.J., Mellor, D.J., Todd, S.E., Bruce, R.A., Ward R.N. 2002. Effects of local
371 anaesthesia or local anaesthesia plus a non-steroidal anti-inflammatory drug on the
372 acute cortisol response of calves to five different methods of castration. *Res. Vet. Sci.*
373 73, 61-70. [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(02\)00045-0](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(02)00045-0)

374 Sotocinal, S.G., Sorge, R.E., Zaloum, A., Tuttle, A.H., Martin, L.J., Wieskopf, J.S.,
375 Mapplebeck, J.C., Wei, P., Zhan, S., Zhang, S., McDougall, J.J., King, O.D., Mogil,
376 J.S. 2011. The rat grimace scale: a partially automated method for quantifying pain in
377 the laboratory rat via facial expressions. *Molecular Pain*. 7, 1-10. doi: [10.1186/1744-](https://doi.org/10.1186/1744-8069-7-55)
378 [8069-7-55](https://doi.org/10.1186/1744-8069-7-55)

379 Van Loon, J.P., Van Dierendonck, M. C. 2015. Monitoring acute equine visceral pain with
380 the Equine Utrecht University Scale for Composite Pain Assessment (EQUUS-
381 COMPASS) and the Equine Utrecht University Scale for Facial Assessment of Pain
382 (EQUUS-FAP): A scale-construction study. *Vet. J.* 206, 356-364. doi: [10.1016/j.tvjl.2015.08.023](https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.08.023)

384 Vaz, F.N., Restle, J., Pádua, J.T., Morales, D.C.S.P. Pacheco, P.S., Maysonave, G.S.
385 2014. Características de carcaça e da carne de bovinos mestiços não-castrados ou

386 submetidos a diferentes métodos de castração. Ci. Anim. Bras. 15, 428-436. doi:
387 10.590/1089-6891v15i426218

388 Von Borell, E., Baumgartner, J., Giersing, M., Jäggin, N. Prunier, A., Tuytens, F.A.,
389 Edwards, S.A. 2009. Animal welfare implications of surgical castration and its
390 alternatives in pigs. Animal. 3, 1488-1496. doi:[10.1017/s1751731109004728](https://doi.org/10.1017/s1751731109004728)

391 Watts, J.M., Stookey, J.M. 2000. Vocal behaviour in cattle: the animal's commentary on
392 its biological processes and welfare. Appl. Anim. Behav. Sci. 67, 15. pmid: 10719186

393
394
395
396
397
398

399
400
401
402
403
404
405
406
407
408
409
410
411
412
413
414
415
416
417
418
419
420
421
422
423
424
425
426
427
428
429
430
431
432
433
434
435
436

437

438

439

440

CAPÍTULO 1

ARTIGO 2

Artigo redigido de acordo com as normas da revista Theriogenology, com exceção da numeração das páginas, normas das figuras e tabelas e referências. Os resultados apresentados neste manuscrito, são parciais. O hiperlink das referências.
<https://www.journals.elsevier.com/theriogenology>

Produção espermática e morfometria testicular em novilhos nelores castrados pelos métodos cirúrgico, químico e imunológico

Paulo Henrique Yamada¹, Viviane Maria Codognoto¹, Felipe Rydygier de Ruediger², Kelry Mayara da Silva¹, Viviana Vallejo Aristizábal¹, Guilherme Rizzoto³, Fabiana Ferreira de Souza¹, Ricardo Velludo Gomes de Soutello⁴, Marcelo George Mungai Chacur², Eunice Oba^{1*}

¹Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, São Paulo, Brasil.

²Departamento Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, São Paulo, Brasil.

³Faculty of Veterinary Medicine, Department of Production Animal Health, University of Calgary, Calgary, AB, Canada.

⁴Departamento de Ciência e Tecnologia Animal, Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Dracena, São Paulo, Brasil.

*Corresponding author: Department of Animal Reproduction and Veterinary Radiology, School of Veterinary Medicine and Animal Science, São Paulo State University (UNESP), Rua Prof. Dr. Walter Maurício Correa, s/n, Botucatu, SP 18681-681, Brazil. Tel: +55 14 3880-2127, E-mail: eunice.oba@unesp.br

Resumo

O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da castração cirúrgica, química e imunológica sobre as características espermáticas, morfometria e termografia testicular, concentração testosterona e avaliação da expressão facial durante o ato da castração. Para isso, foram utilizados 80 novilhos da raça Nelore com aproximadamente 20 meses de idade, contemporâneos, oriundos do mesmo rebanho, mantidos a pasto, com suplementação durante o período experimental até atingirem o peso de 480 kg para o abate. Os novilhos foram divididos em 4 grupos (n=20/grupo) homogêneos conforme o peso. Os tratamentos consistiram em três métodos de castração, sendo eles: orquiectomia (ORQ); químico (QUI); imunológico (IMUN); e o grupo controle, sem castração (CONT). Na QUI, foram injetados em cada testículo, 15 mL de CaCl 40% associado a 0,5% DMSO, após bloqueio anestésico regional e local. no procedimento para a IMUN foram aplicados 1mL/animal de Bopriva® (Zoetis, São Paulo, SP, Brasil), por via subcutânea, em três aplicações (D-30, D0 e D90). Sete dias antes dos tratamentos foram realizados o exame andrológico. Os animais foram abatidos no D220. Os resultados mostram que, a avaliação (CE) e volume testicular, não foi observado diferença estatística significativa no momento D0. Já no momento D15, o grupo químico apresentou um aumento quando comparado aos grupos imunológico e controle. Nos momentos D60 e D150 notaram-se diferenças quando se compara o grupo controle ao grupo imunológico, sendo que houve uma diminuição da CE e volume testicular no grupo imunológico. Na concentração, o grupo imunológico apresentou maior concentração em relação ao grupo químico no momento D15. A motilidade foi menor no grupo imunológico quando comparada ao grupo controle no momento D60. Já os parâmetros volume, (número de espermatozoides totais) e vigor não apresentaram diferenças significativas, e avaliação de patologia espermática se manteve igual entre os grupos durante todo momento. Já na testosterona, quando comparado aos outros níveis entre os momentos dentro de cada grupo, diferenças foram observadas no grupo imunológico no momento D15, sendo que no grupo cirúrgico e químico observou-se diferença estatística no momento D0 com maiores concentração de testosterona quando comparado aos momentos D15, D60 e D150, além disso, no momento D0, não se observou diferença estatística entre os grupos, com exceção do grupo imunológico ($P<0.05$), porém tal observação é causa da primeira aplicação da vacina no D-30. Em relação à avaliação termográfica testicular não se observou diferenças estatísticas em nenhum momento, conclui-se que o método de castração imunológico é uma alternativa viável que suprime a produção de testosterona e ocasionando atrofia testicular, além de ser um procedimento menos invasivo favorecendo o bem-estar e diminuindo o estresse.

Palavras-chave: Castração, Testículo, Dor e Termografia.

Abstract

The aim of this project was to evaluate and compare the surgical, chemical and immunological methods of castration in cattle, and to verify the impact of each method on sperm production and testicular morphometry. For this purpose, 80 Nelore calves with approximately 20 months old, from the same herd, kept on pasture, were used during the experimental period until reaching a slaughter weight of 480 kg. The animals were divided into 4 groups (n = 20 / group) homogeneous according to weight. The treatments consisted of three methods of castration: orchiectomy (ORQ); chemical (QUI); immunological (IMUN); and the control group, non-castrated (CONT). In the QUI, 15 mL of 40% CaCl associated with 0.5% DMSO were injected into each testicle, after regional and local anesthetic block. In IMUN, 1mL / animal of Bopriva® (Zoetis, São Paulo, SP, Brazil) was applied subcutaneously in three applications (D 30, D0 and D90). The andrological exam was performed seven days before the treatments. The animals were slaughtered on the D220. The results show that, in the evaluation (EC) and testicular volume, no statistically significant difference was observed at time D0. At the time D15, the chemical group presented an increase when compared to the immunological and control groups. At the concentration, the immunological group presented higher concentration in relation to the chemical group at time D15. Motility was lower in the immunological group when compared to the control group at the time D60. On the other hand, the parameters volume, number of spermatozooids in ejaculate and vigor did not present significant differences, and sperm pathology evaluation remained the same between groups at all times. In testosterone, when compared to the other levels between the moments within each group, differences were observed in the immunological group, a statistically significant difference was observed in the D0 moment with higher testosterone levels when compared to the D15, D60 and D150 moments; in addition, at the D0 moment, there was no statistical difference between the groups, except for the immunological group ($P < 0.05$). Immunological group at the D15 moment, being that in the surgical and chemical group but this observation is the cause of the first application of the vaccine in the D-30. Regarding the testicular thermographic evaluation, no statistical differences were observed at any time, it is concluded that the method of castration is a viable alternative that suppresses the production of testosterone and causes testicular atrophy, besides being a less invasive procedure favoring well-being and reducing stress.

Keywords: Castration, Testicle, Pain and Thermography.

Introdução

A castração de machos é uma técnica tradicional usada pelos produtores de bovinos de corte, visando facilitar o manejo e evitar o efeito dos hormônios androgênicos sobre as características de carcaça e da carne[1]. No entanto, ainda há discussão quanto ao método de castração mais eficaz, e portanto, as circunstâncias e a preferência do produtor devem ser consideradas na escolha da técnica, e levando em conta também os diferentes fatores existentes em cada prática [2].

A castração cirúrgica é invasiva e mutilatória, por retirar órgãos do sistema reprodutivo do animal[3], e necessita de cuidados pré e pós-operatórios específicos [4], como qualquer procedimento cirúrgico. Nos métodos não-cirúrgicos são utilizadas substâncias que inibem processos da função reprodutiva ou que impedem que gametas viáveis sejam produzidos. Por motivos diversos, desde custo à preocupação com o bem-estar animal [5,6] este tipo de castração vem sendo estudado e aprimorado, especialmente nos últimos anos.

A castração química é uma técnica segura, efetiva, viável, irreversível, de aplicação única, podendo ser realizada em diferentes espécies de maneira massiva e apresentando poucas reações adversas. Redução da dor e estresse, ausência de hemorragia, infecção por contaminação pré e pós-cirúrgico, são algumas das inúmeras vantagens destes métodos [7]. Já a imunocastração é aprovada em mais de 50 países e usada com sucesso há mais de uma década na produção de suínos, para diminuir o odor de macho não- castrado (*boartaint*), melhorando a produtividade na fase da terminação e a qualidade da carne [8]. Numa ampla revisão, sobre a imunocastração em bovinos e suínos, concluíram [9]. que este método, utilizando anti-GnRH, pode ser uma alternativa para produzir animais com acabamento de carcaça e temperamento semelhante aos dos animais castrados, sem os riscos inerentes ao período pós-cirúrgico [10].

Quanto à durabilidade do procedimento, o efeito é permanente na castração cirúrgica, contudo na química ainda é contraditório a longo prazo. Já na imunológica a função reprodutiva é sessada temporariamente, sendo que o uso de 3 aplicações pode promover a infertilidade por até 12 meses [11].

O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da castração cirúrgica, química e imunológica sobre as características espermáticas, morfometria e termografia testicular, concentração testosterona e avaliação da expressão facial durante o ato da castração.

Material e Métodos

Aspectos éticos

Todos os procedimentos utilizados na presente pesquisa foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/FMVZ, protocolo nº 0178/2016.

Local, animais e manejo

O estudo foi desenvolvido em uma Fazenda conveniada com a UNESP, Campus de Dracena, localizada no município de Castilho, região oeste do estado de SP. Foram utilizados 80 novilhos da raça Nelore, durante 5 meses, com idade média de 20 ± 2 meses, peso médio aproximado de 400 kg, contemporâneos, oriundos do mesmo rebanho. Exames andrológicos foram realizados de acordo com as recomendações do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal [11], previamente ao estudo, para certificar se os animais estavam aptos para reprodução.

Os novilhos foram mantidos em iguais condições, em piquete formado por *Urochloa decumbens*, suplementados diariamente com 1 kg de concentrado/animal (85,12% de milho quebrado, 9,17% de farelo de soja, 3,57% de mistura mineral, 1,43% de ureia e 0,71% de calcário) e com acesso a água *ad libitum* durante todo o período

experimental.

Delineamento experimental

Os 80 animais foram divididos em quatro grupos de 20, sendo orquiectomia (ORQ, n = 20), castração química (QUIM, n = 20), castração imunológica (IMUN, n = 20), e o grupo controle (CONT, n = 20), no qual não foi realizado nenhum procedimento de castração.

A colheita de sêmen e morfometria testicular foram realizadas nos momentos D0, D15, D60 e D150. O abate dos animais aconteceu aos 220 dias do experimento

Métodos de castração

Castração cirúrgica

Para a castração cirúrgica os animais foram submetidos a jejum alimentar de 6h e hídrico de 4h. Após a contenção, era realizada a lavagem da bolsa testicular com água e sabão, e secagem com papel absorvente. A antisepsia realizada com solução a base de PVPI tópico, bloqueio anestésico regional com 10 mL de cloridrato de lidocaína, sem vaso constritor em cada cordão espermático e local, na região distal, onde era realizada a incisão de pele [12]. A técnica cirúrgica utilizada para orquiectomia era aberta com incisão da túnica vaginal e ligadura do cordão espermático com fio catagute nº 2.

Ao término do procedimento era realizada a limpeza da ferida cirúrgica com solução salina a 0,9% NaCL e solução PVPI tópico. Curativo local com repelente tópico como medida profilática, e terapia anti-inflamatória associada antibioticoterapia (diclofenaco de sódio associado a penicilina G benzatina por via intramuscular).

Todos os animais permaneceram em observação por 2h após o procedimento cirúrgico, com o intuito de observar possíveis hemorragias.

Castração química

Os mesmos procedimentos iniciais (jejum, limpeza, antissepsia e anestesia) realizados na castração cirúrgica foram adotados na castração química.

Neste grupo, após a antissepsia, 15 mL de CaCl_2 40% associado a 0,5% DMSO foram administrados, por via intratesticular, utilizando seringas de 20 mL e agulhas 30 x 8mm [13]. Visando a deposição do medicamento no centro do testículo, a agulha era posicionada na região medial e introduzida no sentido craniocaudal. Desta forma, a administração foi efetuada em *bolus*, em cada testículo, com única aplicação.

Castração imunológica

Para a castração imunológica foram aplicadas 3 doses de 1mL de Bopriva® (Zoetis, São Paulo, SP, Brasil), por via subcutânea, conforme instrução do fabricante. A primeira dose foi administrada 30 dias antes do D0, a segunda 30 dias após a primeira (D0) e a terceira no D60.

Exame andrológico

O sêmen foi colhido por eletroejaculação (Autoejac®, Novet, Uberaba MG, Brasil). Foram avaliados os aspectos clínico-andrológicos, circunferência escrotal (CE) e biometria testicular (comprimento, largura e altura) para o cálculo do volume testicular [14], além dos aspectos físicos e morfológicos do sêmen, conforme recomendação do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal [10].

Foram aferidas temperaturas da superfície do escroto por meio de termografia digital de infravermelho (Termovisor FLIR® E-40), sendo o foco emissor do aparelho direcionado na porção caudal do escroto de cada touro e orientado, perpendicularmente, a 1m de distância. As imagens foram analisadas pelo software FLIR Tools® versão 3.1.13080.1002 para se obter as temperaturas das regiões em 5 pontos da superfície escrotal, dos lados direito (D) e esquerdo (E): T1: Temperatura do cordão espermático;

T2: Temperatura da região proximal; T3: Temperatura da região medial; T4: Temperatura da região distal; T5: Temperatura do epidídimo, [28].

Análise estatística

Os dados foram avaliados utilizando os testes de Levene (homocedasticidade), Kolmogorov-Smirnov (normalidade) e Mauchly (esfericidade). Para comparar efetividade do tratamento (controle, cirúrgico, imunológico e químico) entre os momentos na mesma variável foi utilizado análise de variância (ANOVA) *one way* quando as medias foram paramétricas ou teste Kruskal-Wallis quando não foram. Para comparação entre os momentos em cada grupo, ANOVA *two way* para medidas repetidas e distribuídas normalmente foi realizado, ou Friedman para variáveis com distribuição não homogênea. Teste de Tukey foi utilizado para as comparações múltiplas entre os grupos e os momentos em cada análise. Todos os resultados foram apresentados como as médias $\pm$ erro padrão (SEM) na escala original, e diferencas estatísticas foram consideradas significativas quando $p \leq 0,05$. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software SigmaPlot 11.0.

Resultados

Segundo a avaliação da circunferência escrotal (CE) e volume testicular, não foi observado diferença estatística significativa no momento D0. Já no momento D15, o grupo químico apresentou um aumento significativo desses parâmetros quando comparado aos grupos imunológico e controle. Nos momentos D60 e D150 notaram-se diferenças quando se comparou o grupo controle ao grupo imunológico, sendo que houve uma diminuição da CE e volume testicular no grupo imunológico (Figura 1).

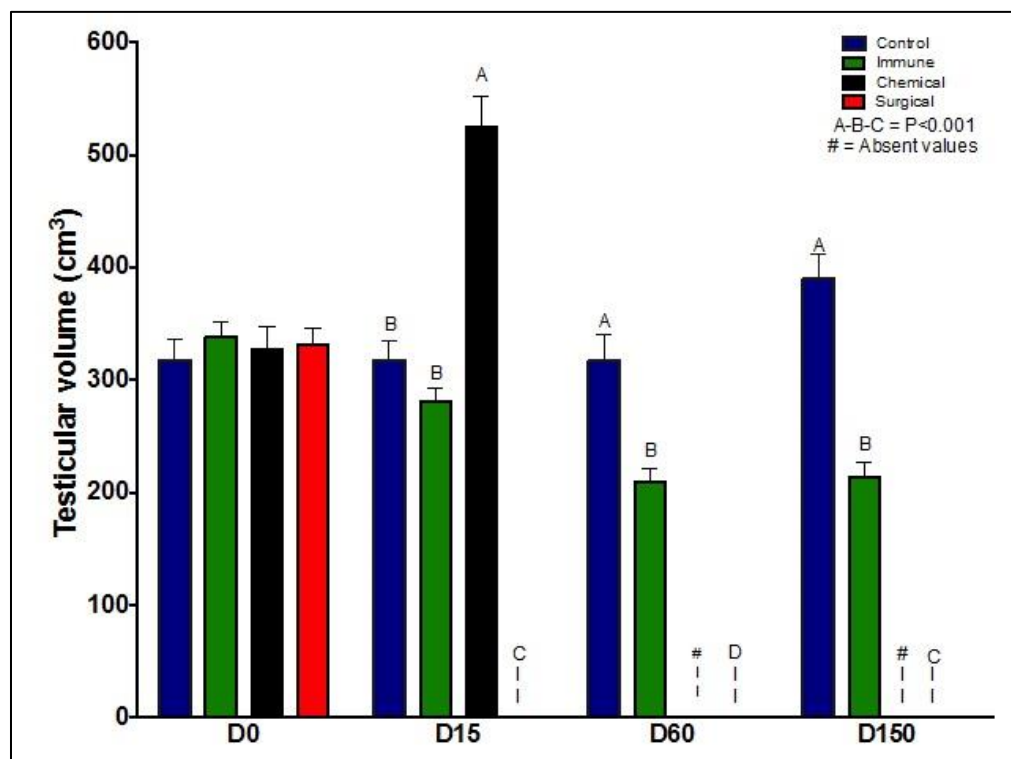
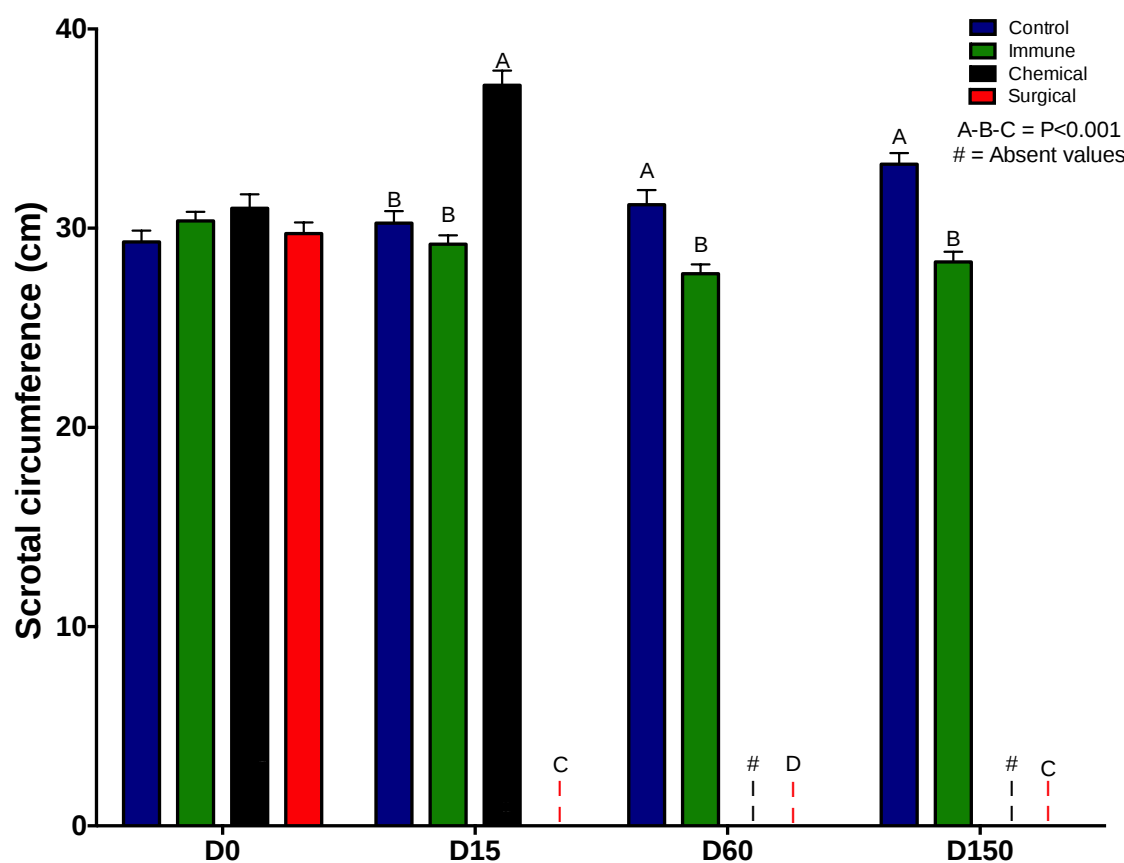


Figura 1. Médias da circunferência escrotal e volume testicular de novilhos castrados por três técnicas e avaliados em 4 momentos diferentes. Ausência de testículo pós-castração

(grupo cirúrgico); Ausência de testículo pós-castração (grupo químico). A-B-C= $p < 0.001$.

Valores ausentes.

A concentração, volume, número de espermatozoides no ejaculado, motilidade e vigor nos diferentes grupos e momentos estão dispostos na Tabela 1.

Tabela 1. Médias dos diferentes parâmetros, nos grupos controle, cirúrgico, imunológico e químico.

Parâmetro	Momento	Grupo			
		Controle	Cirúrgico	Imunológico	Químico
Concentração ($\times 10^6/\text{mL}$)	D0	22.95 $\pm$ 3.90	12.45 $\pm$ 5.35	21.05 $\pm$ 6.14	11.3 $\pm$ 3.96
	D15	-	-	-	Azoospermia
	D60	9.06	-	10.37 $\pm$ 2.98	-
	D150	18.53 $\pm$ 5.08	-	3.20 $\pm$ 3.09	-
Volume (mL)	D0	3.03 $\pm$ 0.54	3.08 $\pm$ 0.35	3.40 $\pm$ 0.53	3.76 $\pm$ 0.39
	D15	-	-	-	Azoospermia
	D60	3.22 $\pm$ 0.53	-	2.19 $\pm$ 0.21	-
	D150	2.31 $\pm$ 0.26	-	1.1 $\pm$ 0.24	-
Número de espermatozoides no ejaculado ($\times 10^6$)	D0	69.5	38.3	71.5	42.4
	D15	-	-	-	Azoospermia
	D60	29.1	-	22.71	-
	D150	42.8	-	3.52	-
Motilidade (%)	D0	40.67 $\pm$ 7.77	51.58 $\pm$ 7.88	41.58 $\pm$ 8.72	40.5 $\pm$ 8.41
	D15	-	-	46 $\pm$ 6.34	Azoospermia
	D60	46.92 $\pm$ 7.54 ^a	-	24.67 $\pm$ 5.76 ^b	-
	D150	57.89 $\pm$ 6.33	-	45 $\pm$ 5.00	-
Vigor (0 - 5)	D0	1.86 $\pm$ 0.29	1.84 $\pm$ 0.34	1.57 $\pm$ 0.35	2.1 $\pm$ 0.54
	D15	-	-	-	Azoospermia
	D60	2.15 $\pm$ 0.24	-	1.46 $\pm$ 0.25	-
	D150	2.47 $\pm$ 0.20	-	2.5 $\pm$ 0.50	-

*Letras diferentes na mesma linha, apresentaram diferença estatística ($P < 0.05$). - Sem amostra.

Quando se comparou os parâmetros espermáticos (Tabela 1), diferenças estatísticas foram observadas na concentração, sendo que o grupo imunológico apresentou maior concentração em relação ao grupo químico no momento D15 (o valor está ausente na tabela). A motilidade foi menor no grupo imunológico quando comparada ao grupo controle no momento D60. Já os parâmetros volume, número de espermatozoides no

ejaculado e vigor não apresentaram diferenças significativas, e avaliação de patologia espermática se manteve igual entre os grupos durante todos os momentos não demonstrando diferença estatística, indicando homogeneidade dos grupos.

Segundo as dosagens de testosterona, quando se comparou seus níveis entre os momentos dentro de cada grupo, diferenças foram observadas no grupo imunológico no momento D15, sendo que no grupo cirúrgico e químico observou-se diferença estatística no momento D0 com maiores níveis de testosterona quando comparado aos momentos D15, D60 e D150 (Figura 2), além disso, no momento D0, não se observou diferença estatística entre os grupos, com exceção do grupo imunológico ($P<0.05$), porém tal observação é causa da primeira aplicação da vacina no D-30.

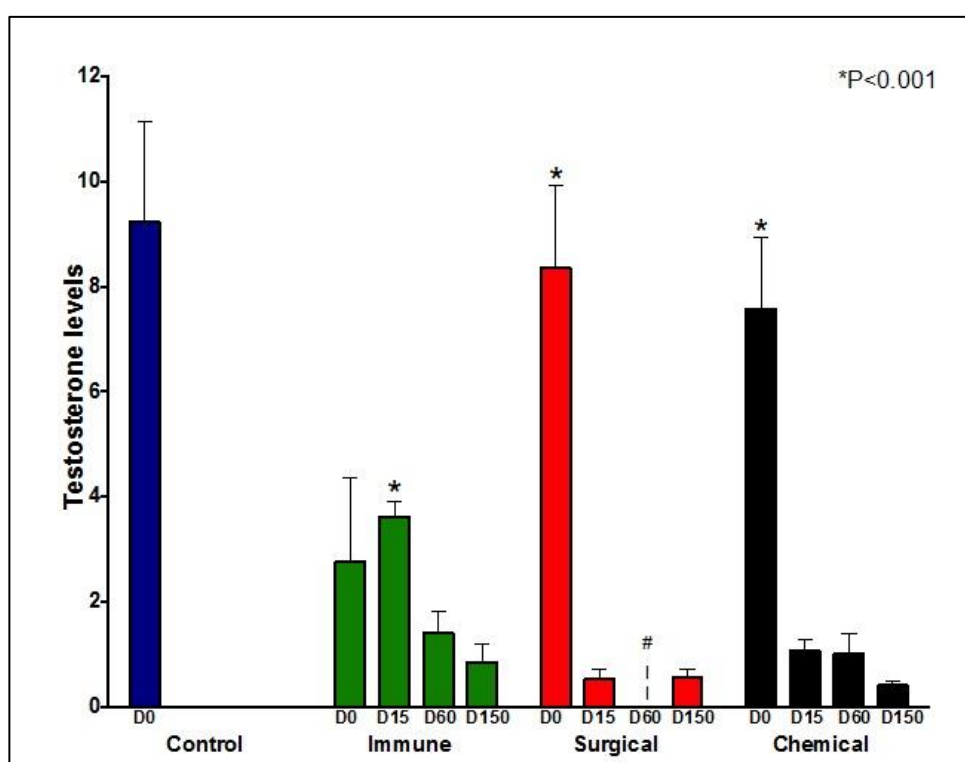


Figura 2. Gráfico demonstrando os níveis de testosterona nos grupos, controle, imunológico, cirúrgico e químico nos momentos D0, D15, D60 e D150. * $p<0.001$. # - valores ausentes.

Em relação à avaliação termográfica testicular não se observou diferenças estatísticas significativas entre os grupos durante os momentos avaliados (D0, D15 e D60) e segundo as regiões avaliadas (T1: Temperatura do cordão espermático; T2: Temperatura da região proximal; T3: Temperatura da região medial; T4: Temperatura da região distal; T5: Temperatura do epidídimo; Figura 3).

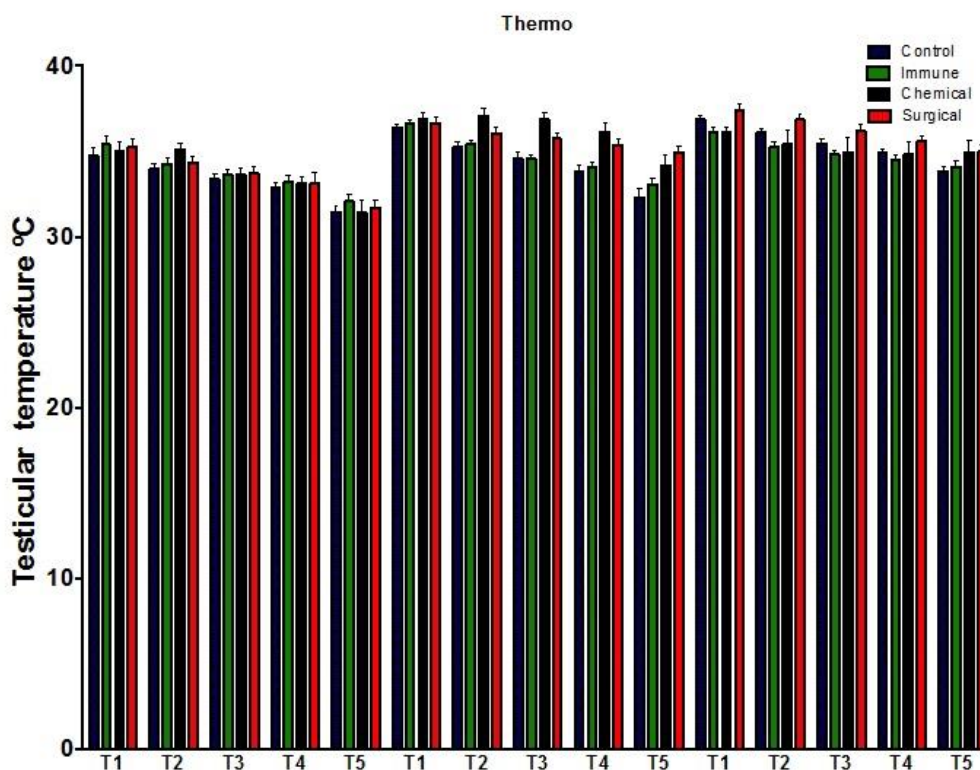


Figura 3. Gráfico demonstrando a temperatura testicular nos grupos controle, imunológico, cirúrgico e químico nos momentos D0, D30 e D60 segundo as regiões avaliadas (T1, T2, T3 T4 e T5). * $p < 0.001$.

Discussão

A castração cirúrgica ainda é o método mais utilizado para a esterilização de animais a campo. Contudo, ocasiona afecções como miíases, abscessos, granulomas, e em alguns casos pode levar a quadros de hemorragias e funiculite [15] e [16].

A castração química, realizada em nosso estudo com CaCl_2 40% associado a 0,5%

DMSO, ocasionou efeitos testiculares deletérios observados por uma inflamação local, aumento testicular (inchaço) e necrose de pele, sendo essas características observadas 45 dias pós-castração. Esses efeitos colaterais ocasionados pelo CaCl_2 foram sanados à medida que os animais foram submetidos a um procedimento de castração cirúrgica, com o intuito de reverter o quadro em que estes se encontravam.

Resultados similares foram observados por Canpolat et al. (2006), quando utilizou cloreto de cálcio a 30% para castração, sendo observado nos animais edema testicular devido à orquite e descamação escrotal, e na necropsia presença de necrose de tecidos testiculares. Já quando se utilizou etanol, o edema testicular também foi observado nas primeiras 48 horas pós-injeção diminuindo significativamente após 3 semanas com respectiva atrofia testicular depois de 60 dias, fato este que não aconteceu nos animais do grupo CaCl 30%, em que apresentaram um aumento do volume testicular que se manteve durante todo o experimento [17]. Já [18] quando utilizaram uma solução hipertônica de NaCl a 20% não observaram processo inflamatório local e confirmaram que a injeção foi suficiente para causar lesão testicular com respectiva atrofia.

Já a castração imunológica, com aplicação de 3 doses de Bopriva®, se mostrou eficaz visto que diminuiu a circunferência escrotal e volume testicular nos momentos D60 e D150. O mesmo resultado foi observado quando se comparou métodos de castração com 2, 3 e 4 aplicações de Bopriva®, onde se observou diminuição do perímetro escrotal em novilhos, sendo isto justificado pela ação da vacina em suprimir a produção hormonal de FSH, LH e testosterona [19], [20] e [21]. Essa diminuição também foi observada em cordeiros imunocastrados com uma proteína recombinante (Ovalbumina-LHRH-7) [22], e em touros mestiços submetidos a vacina anti-hormônio liberador do hormônio luteinizante (LHRH) [23], sendo a proteína recombinante responsável pela produção e anticorpos anti-GnRH, que suprimiu o desenvolvimento e função testicular [22].

Em bovinos imunocastrados, as concentrações de testosterona começaram a baixar depois da segunda dose da vacina Bopriva®. A terceira dose de Bopriva® foi realizada no momento D60 e manteve a concentração de testosterona baixos até o momento D150, demonstrando seu efeito 90 dias após a última dose, sendo resultados similares relatados por [23], onde a concentração de testosterona se mantiveram baixos após 104 dias da última aplicação. Dessa maneira, a imunização com Bopriva® foi capaz de diminuir a função reprodutiva de animais mantidos em semi-confinamento durante os 150 dias de avaliação com aplicação de 3 doses da vacina, confirmando seu efeito em suprimir a produção de testosterona sendo o mesmo observado em estudo com 3 e 4 aplicações [24], com a imunização ativa contra GnRH, [23], corroborando com nossos resultados, que demonstraram diminuição significativa da concentração de testosterona a partir da segunda dose da vacina, que ocorreu no momento D30 ficando abaixo de 1 ng/mL durante todo o estudo.

Em relação às características seminais, o grupo imunológico apresentou diminuição de motilidade e concentração espermática, sendo isso também observado em touros submetidos à imunocastração com vacina anti-hormônio liberador do hormônio luteinizante (LHRH) [22], e em cordeiros imunocastrados com queda na produção espermática [22]. As amostras de sêmen apresentaram ausência e baixo número de espermatozoides, confirmando a ação da vacina em causar alteração das células de Sertoli visto que inibe a secreção de LH e FSH [22]. Já no grupo químico, no momento D15, os animais apresentaram azoospermia corroborando com os dados de [18] em bovinos castrados com injeção intratesticular de solução hipertônica de NaCl e [24], em cães castrados com injeção contendo gluconato de zinco, apresentando diminuição da concentração espermática após 7 dias e azoospermia 63 dias pós tratamento.

As termografias da região escrotal não apresentaram diferenças significativas

entre grupos durante as avaliações demonstrando médias de 33,7°C no momento D0, 34,0°C no D30 e 35,4°C no D60. Touros submetidos à castração com injeção hipertônica a base de NaCl, mantiveram temperatura escrotal e corpórea dentro da normalidade para a espécie com médias de temperatura mensurada com infra vermelho entre 26,3°C a 34,3°C, deixando claro que a inflamação local ocasionada pela castração não alterou a temperatura testicular, validando a termografia como uma técnica indireta para avaliar mudanças de temperatura testicular [25] e [18].

Conclusão

Podemos concluir que o método de castração imunológica é uma alternativa viável visto que suprime a produção de testosterona e o desenvolvimento testicular, ocasionando atrofia dos testículos, além de controlar o comportamento sexual de touros. É um método menos invasivo que evita os riscos e problemas pós-operatórios ocasionados pela castração cirúrgica, favorecendo o bem-estar animal e diminuindo o estresse.

Referências

- [1] Restle J, Vaz FN, Alves Filho DC. Machos não-castrados para a produção de carne. In: Restle J, editor. Confinamento, pastagens e suplementação para produção de bovinos de corte. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria; 1999, p. 215-31.
- [2] Morales DCSP. Effect of methods of castration on performance and carcass characteristics of cattle crossbred milk [dissertação]. Goiânia: Universidade Federal de Goiás; 2004.
- [3] Johnston SD, Kustritz MVR, Olson PNS. Canine and feline theriogenology. Philadelphia: W. B. Saunders; 2001.
- [4] Slatter D. Textbook of small animal surgery. 3rd ed. Philadelphia: W. B. Saunders; 2003. v.2.
- [5] Prunier A, Bonneau M, Von Borell EH, Cinotti S, Gunn M, Fredriksen B, et al. A review of the welfare consequences of surgical castration in piglet and the evaluation of non-surgical methods. Anim Welf 2006;15:277.
- [6] Vonborell E, Baumgartner J, Giersing MJ, Baumgartner J, Giersing M,

Jäggin N, et al. Animal welfare implications of surgical castration and its alternatives in pigs. *Animal* 2009;3:1488-96.

[7] Looci R, Aiudi G, Silvestre F, Lissner E, Lacalandra G. A dose finding, long- term study on the use of calcium chloride in saline solution as a method of non-surgical sterilization in dogs: evaluation of the most effective concentration with the lowest risk. *Acta Vet Scand* 2014;56:63.

[8] Bonneau M, Enright WJ. Immunocastration in cattle and pigs. *Livest Sci* 1995;42:192-200.

[9] Restle J, Roso C, Soares AB. Produtividade animal e retorno econômico em pastagem de aveia preta mais azevém adubada com fontes de nitrogênio em cobertura. *Rev Bras Zootec* 2000;29(2):357-64.

[10] Speroff L, Darney PD. A clinical guide for contraception. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2010.

[11] Colégio Brasileiro de Reprodução Animal - CBRA. Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. 3a ed. Belo Horizonte: CBRA; 2013.

[12] Andrade SF. Manual de terapêutica veterinária. 2a ed. São Paulo: Roca; 2002.

[13] Pereira LF. Avaliação do cloreto de cálcio por via intratesticular como método de esterilização química em bovinos [trabalho de conclusão de curso]. Franca: Universidade de Franca; 2011, p. 1-69.

[14] Bailey TL, Hudson RS, Powe TA, Riddell MG, Wolfe DF, Carson RL. Caliper and ultrasonographic measurements of bovine testicles and a mathematical formula for determining testicular volume and weight in vivo. *Theriogenology* 1998;49(10):581-98.

[15] Oliveira MCS, Brito LG. Miíases dos bovinos. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste; 2005. (Embrapa Pecuária Sudeste. Comunicado Técnico, 56).

[16] Brito TR, Moura MS, Bueno JPR, Carvalho FSR, Silva CR. Principais afecções que acometem bovinos pós-castração cirúrgica. *PUBVET (Londrina)*, 2011;5(6):1026-1033.

[17] Canpolat I, Gur S, Gunay C, Bulut S, Eroksuz H. An evaluation of the outcome of bull castration by intra-testicular injection of ethanol and calcium chloride. *Rev Méd Vét* 2006;157(8-9):420-5.

- [18] Neto OA, Gasperin BG, Rovani MT, Ilha GF, Nóbrega Júnior GE, Mondadori RG, et al. Intratesticular hypertonic sodium chloride solution treatment as a method of chemical castration in cattle. *Theriogenology* 2014;82:1007-11.
- [19] Marti S, Jackson JA, Sloomans N, Lopez E, Hodge A, Pérez-Juan M, et al. Effects on performance and meat quality of Holstein bulls fed high concentrate diets without implants following immunological castration. *Meat Sci* 2017;126:36-42.
- [20] Machado DS, Alves Filho DC, Brondani IL, Argenta FM, Pereira LB, Silva MA. Componentes não carcaça de novilhos de corte submetidos à castração cirúrgica ou imunológica. *Cienc Anim Bras* 2018;19:e-47923.
- [21] Ruiz LRB, Macitelli F, Braga JS, Vasconcelos AD, Costa MJRP. Efeito da imunocastração sobre a morfometria dos testículos de bovinos terminados em sistema de semiconfinamento. *Anais no 55a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia*; 2018; Goiânia. Goiânia: SBZ; 2018, p.1-5.
- [22] Gökdağ O, Atay O, Ülker H, Kayaardı S, Kanter M, DeAvila MD, et al. The effects of immunological castration against GnRH with recombinant OL protein (Ovalbumin-LHRH-7) on carcass and meat quality characteristics, histological appearance of testes and pituitary gland in Kıvrıkcık male lambs. *Meat Sci* 2010;86:692-8.
- [23] Zanella R, Zanella EL, Reeves JJ, Hernandez J, Motta AC, Avila D. Características testiculares de touros imunizados com vacina anti-hormônio liberador do hormônio luteinizante. *Pesqui Agropecu Bras* 2009;44(10):1359-63.
- [24] Marti S, Jackson JA, Sloomans N, Lopez E, Hodge A, Pérez-Juan M, et al. Effects on performance and meat quality of Holstein bulls fed high concentrate diets without implants following immunological castration. *Meat Sci* 2017;126:36-42.
- [25] Pérez-Linares C, Bolado-Sarabia L, Figueroa-Saavedra F, Barreras-Serrano A, Sánchez- López E, et al. Effect of immunocastration with Bopriva on carcass characteristics and meat quality of feedlot Holstein bulls. *Meat Sci* 2017;123:45-9.
- [26] Oliveira ECS, Moura MR, Sá MJC, Silva Júnior VA, Kastelic JP, Douglas RH, et al. Permanent contraception of dogs induced with intratesticular injection of a zinc gluconate-based solution. *Theriogenology* 2012;77:1056-63.
- [27] Coulter GH, Senger PL, Bailey DRC. Relationship of scrotal surface temperature measured by infrared thermography to subcutaneous and deep testicular temperature in the ram. *J Reprod Fertil* 1988;84:417-23.
- [28] Lunstra, D. D. and Coulter, G. H. 1997. Relationship between infrared temperature patterns and natural-mating fertility in beef bulls. *Journal of*

Animal Science 75:767-774.

CAPÍTULO 3

ARTIGO 3

Carcass parameters of Nelore cattle subjected to surgical, chemical and immune castration methods in a semi-confined system.

Parâmetros corporais de bovinos Nelore submetidos aos métodos de castração cirúrgico, químico e imunológico em sistema de semi-confinamento.

Paulo Henrique Yamada^{1,*}, Viviane Maria Codognoto¹, Felipe Rydygier de Ruediger², Leticia Cristina Salgado¹, Andressa Filaz Vieira¹, Stella Maris Teobaldo Tironi¹, Aline Sampaio Aranha³, Patricia Aparecida Cardoso da Luz⁴, Ricardo Velludo Gomes de Soutello⁴, Eunice Oba¹

¹Department of Animal Reproduction and Veterinary Radiology, School of Veterinary Medicine and Animal Science, São Paulo State University, Botucatu, São Paulo, Brazil.

²Department Animal Science, University of Oeste Paulista, Presidente Prudente, São Paulo, Brazil.

³Department of Animal Production, FMVZ, São Paulo State University, UNESP, Botucatu, Brazil

⁴Department of Animal Science and Technology, UNESP – São Paulo State University, Dracena-SP, Brazil.

*Correspondence: Department of Animal Reproduction and Veterinary Radiology, School of Veterinary Medicine and Animal Science, São Paulo State University (UNESP), Rua Prof. Dr. Walter Maurício Correa, s/n, Botucatu, SP 18681-681, Brazil. Tel: +55 18 996074185, E-mail: paulinhoyamada@hotmail.com

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the body weight, carcass characteristics and body condition score of Nelore cattle subjected to surgical, chemical and immunological castration methods in a pasture finishing system. A total of 78 contemporary Nelore cattle were used, with a mean age of 22 ± 2 months. These were randomly divided into four groups, being the control method ($n = 20$) 395 ± 105 kg; ($n = 20$) the surgical group 406 ± 121 kg, chemical ($n = 19$) 407 ± 133 kg and immunological ($n = 19$) 405 ± 115 kg. And maintained on pasture of *Urochloa decumbens* with access ad libitum to water. The animals were weighed on castration day (D0) and 15, 60, 120 and 210 days after castration. The body condition score, the subcutaneous fat thickness and the carcass yield were analyzed. The results were submitted to normality test and analysis of variance using ANOVA. Comparisons between castration methods and weights after castration were performed using t-Student test at 5% level ($P < 0.05$). There was no statistical difference between weights and castration method, in the period between day zero and day 15, uncastrated animals and those submitted to the castration method gained weight. While the animals submitted to surgical and chemical castration methods lost weight up to 15 and 60 days after the procedure. ECC was higher in the animals submitted to the surgical method, lower in the chemical and in the non-castrated animals, while the immunological did not differ from the others. The uncastrated animals presented higher carcass yield and lower subcutaneous fat thickness in relation to the castrated ones and the immune castrated did not differ from the others. The castration methods did not influence the weight of the animals and the immunological castration did not affect the carcass characteristics and the body condition score. Therefore, immunocastration has practical importance in the finishing phase of grazing cattle.

Key-words: carcass yield, males, body condition score, meat.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o peso corporal, características de carcaça e escore de condição corporal de bovinos Nelore submetidos a métodos de castração em sistema de terminação a pasto. Foram utilizados 78 bovinos, com idade média de 22 ± 2 meses, divididos aleatoriamente em quatro grupos, sendo eles: grupo controle (animais não castrados; $n=20$) 395 ± 105 kg; grupo cirúrgico (animais submetidos a procedimento cirúrgico; $n=20$) 406 ± 121 kg, grupo químico ($n=19$) 407 ± 133 kg e grupo imunológico ($n=19$) 405 ± 115 kg. Os animais foram mantidos em pastagem de *Urochloa decumbens* com acesso a água ad libitum. Estes foram pesados no dia da castração (Dia 0) e 15, 60, 120 e 210 dias após a castração. Ao final dos 210 dias experimentais foram analisados o escore de condição corporal visual, a espessura de gordura subcutânea e o rendimento de carcaça dos animais. Os resultados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade e análise de variância utilizando ANOVA. As comparações entre os métodos de castração e os dias após a castração foram realizadas utilizando teste de t-Student a nível de 5% ($P<0,05$). Não foi observada diferença estatística entre os métodos de castração para a variável peso ($P>0,05$). No entanto, no período entre o dia zero e o dia 15, os animais não castrados e os submetidos ao método de castração imunológico ganharam peso ($P<0,05$). Enquanto os animais submetidos aos métodos de castração cirúrgico e químico perderam peso até 15 e 60 dias após o procedimento ($P<0,05$). O escore de condição corporal foi maior nos animais submetidos ao método cirúrgico, menor no químico e nos animais que não foram castrados ($P<0,05$), enquanto o imunológico não diferiu dos demais ($P>0,05$). Os animais não castrados apresentaram maior rendimento de carcaça e menor espessura de gordura subcutânea em relação aos castrados ($P<0,05$) e os imunocastrados não diferiram dos demais ($P>0,05$). Os métodos de castração não influenciaram o peso dos animais e a castração imunológica não prejudicou as características de carcaça e o escore de condição corporal. Portanto, conclui-se que a imunocastração possui importância prática na fase de terminação de bovinos de corte em pastagem.

Palavras- chave: rendimento de carcaça, machos, escore de condição corporal, carne.

INTRODUCTION

Brazil have one of the biggest commercial cattle herds, presenting 219 thousand heads and a meat production of roughly 9.14 million of tons/years (ABIEC, 2017). It's

estimated that the Brazilian herd is composed, in its majority by pasture raised Zebu cattle (*Bos Indicus*), from which 80% are represented by the Nelore breed, these can be explained by the higher adaptability of the breed to the Brazilian climatic conditions (EMBRAPA, 2016).

Although, besides the higher adaptability of Zebu cattle, raising non-castrated males is consider a problem, due to the aggressive behavior and sexual activity between animals of the same sex (sodomy). Other observations are the reduced fat deposition in the carcass of this species (DUNSHEA et al., 2005; ÍTAVO et al., 2008). Therefore, an alternative towards the reduction of such issues is the castration, which a widely used technique in farms, with the objective to reduce the problems with animal handling, due to the aggressive nature and dominance of the animals (ROÇA et al., 2011). Furthermore, the technique improves the quality traits in the carcass and meat (MIGUEL et al., 2013), improving the fat deposition in the carcass and the consequent tenderness of the meat, increasing, therefore, the marketable price and public acceptance (VAZ et al., 2012).

In Brazil, the most used castration method is the surgical (MACHADO et al., 2018), many times performed by farm workers, without the needed care towards hygiene and animal wellness, since the surgery is performed without previous administration of anesthetic, antibiotic, anti-inflammatory drugs in the post-surgical period (ROÇA et al., 2011). What drives the utilization of this castration method the lower price of the procedure, although the post-surgical complications such as funiculitis, abscesses and myiasas are disregarded when such approach is used (BRITO et al., 2011), furthermore, there's also na impact of the pain during the post-surgical period that can lead to weight loss (ROÇA et al., 2011).

An important alternative for such method is the immunocastration, which aims to inhibit the sexual development in males and reduction of the aggressive behavior (OLIVER et al., 2003; MARTÍ et al., 2013). The technique consists of the application of an anti-GnRF (Gonadotrophin Releasing Factor) vaccine, which functions as a GnRH analogue ligated to a carrier protein, acting on the temporary suppression of the testicular activity in cattle (ANDREO, 2013). Another important aspect is that the method promotes animal wellness, since it does not bear the disadvantages of the surgical castration (PARANHOS da COSTA et al., 2002), although yet controlling sexual behavior and improving meat quality (ANDREO et al., 2013).

Another method to consider is the chemical castration, which consists in the intra-testicular application of an sterile solution. Two studies (VIVACQUA et., 2013; DE

LIMA et al., 2014) observed the impacts of chemical castration using solutions based on papain and lactic acid and concluded that the chemical castration is a viable alternative when compared to surgical castration in bulls. Furthermore, the above described studies observed a reduction in the synthesis of androgenic hormones and consequently, a reduction in libido and aggressive behavior in the animals. Lastly, the chemical castration was also indicated regarding weight gain, since it was more efficient than the surgically castrated animals and didn't differ from the control group (non-castrated animals).

There are reports in the literature discussing each one of the methods described above, however, no other work, to our knowledge, have encompassed the 3 methods under the same study design. Therefore, the objective of this study was to evaluate body weight, carcass characteristics and body score conditions in Nelore cattle subjected to the three castration methods and finished in pasture conditions.

MATERIAL AND METHODS

All the procedures involving the animals were in accordance to the ethical principles stipulated by the Animal Care Committee (CEUA) of the Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science (FMVZ) – São Paulo State University (UNESP), Botucatu/SP, Brazil, under the protocol number 178/2016.

Animals

The study was developed in the Córrego Seco farm, associated with UNESP on Dracena campus, located in Castilho, western region of São Paulo. There were used 62 Nelore males (aging 22 ± 2 months). The animals were divided in four groups: Control (CG), $n=20$, 395 ± 105 kg; Surgical Castration group (SCG), $n=20$, 406 ± 121 kg, Chemical Castration group (CHG) ($n=19$) 407 ± 133 kg; and Immune Castration group ($n=19$) 405 ± 115 kg.

During the experimental period (July/2017-January/2018) the animals were kept in pasture (*Urochloa decumbens*) with *ad libitum* access to water, daily, the animals were also supplemented (1kg/animal - (85,12% cracked corn, 9,17% soy meal, 3,57% mineral salt, 1,43% de urea and 0,71% limestone).

Castration methods

For the performance of castration, the animals were kept under fast of solid food (6hs) and liquids (4hs), the animals were restrained in a chute in wich the scrotum was

washed with water and soap and dried with paper towel. Further asepsis was performed using PVPI solution (Povidone-iodine). Regional anesthetic block was performed using lidocaine hydrochloride, without vasoconstriction function, in each spermatic chord and locally on the area of the planned incision.

The open surgical technique was used with incision of the vaginal tunic and ligation of the spermatic cord with catgut n°2. After the procedure, the surgical wound was cleaned with 0.9% NaCl solution and topical PVPI. As prophylactic measure, a local bandage was applied with topical repellent, and antibiotic and anti-inflammatory was also used (Sodium diclofenac associated with Penicillin G benzathine– IM). Lastly, the animals were kept under observation for 2hs after the surgical procedure, aiming to observe and control possible bleedings.

For the chemical method, the same procedures described on the surgical castration were performed. However, with the asepsis, an intra-testicular injection of 15ml of CaCl₂ 40% associated with dimethyl sulfoxide (DMSO) 0.5% was performed, 20ml syringes with 30 X 8 mm needles (PEREIRA, 2013). Aiming to deposit of the solution in the central portion of the testes, the needle was positioned in the medial region and introduced in the cranio-caudal direction. Therefore, there was an application of one bolus in each testis using a single application.

Lastly, for the immune castration, 3 doses (1 ml- IM) of Bopriva® (Zoetis, São Paulo, SP, Brasil), accordingly to the instructions of the company. The first dose was administered 30 days before the day 0 (D0), the day in which the other groups were subjected to the respective castration methods, the second dose was given at D30 and the third at D60.

Assessment of body weight

The animals were weighted using an electronic scale on the day of castration (D0) and 15, 60 and 120 days after the castration, the last assessment was performed on D210, the endpoint of the experimental period.

Body condition scoring

The body score was obtained through visual and touch assessments, the evaluations were performed by a trained professional according to the guidelines provided by Nicholson and Butterworth (1986).

Evaluation of the quality of meat and carcass

The animals were slaughtered in a commercial abattoir, where the carcasses were labeled, weighted and sent to the refrigeration chamber for 24hs at $0 \pm 4^{\circ}\text{C}$. Posteriorly, the carcass yield calculation was performed.

Statistical analyzes

For the evaluation of the live weight, 78 calves were divided in a factorial mode 4X5 (4 castration methods and 5 weight measurements after castration. The data for the quality of carcass were evaluated using a casual design with 4 treatments and 20 repetitions per treatment. However, during the study two animals were deceased and, therefore, removed from the study.

The data was analyzed by the UNIVARIATE NORMAL (SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA, 2010) procedure and the normality was confirmed by the Shapiro-Wilk test ($W \geq 0.90$). In the analyzes, each animal was considered an experimental unit for each of the studied variables. The next step was the evaluation of the data using the PROC MIXED (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA, 2010). The means were calculated using the lsmeans method and the results were reported as minimum squares and sorted using the option probability of differences (pdiff), with the significance level of 5%.

RESULTS AND DISCUSSION

The weight of the animal throughout the study according to the treatments is indicated in table 1. Based on the results, no difference on the final live weight was observed in the animals submitted to the different treatments. However, comparing the different measurements within the same groups, a difference was observed ($P < 0.05$), which was expected once the animals were growing. Interestingly, a non-significant decrease on live weight was observed on D60 when compared to D15. Although the absence of difference, the small reduction observed can possibly be associated with the castration methods used, indicating a possible response of the organism. At 120 days the animals were recovered and gained weight, which can be observed by the increase in final live weight.

Table 1. Body weight on Nelore bull calves non-castrated and subjected to different castration methods, finished in *Urochloa decumbens* pasture.

Castration	Moments	Weight
------------	---------	--------

Control	430,27
Surgical	434,23
Chemical	425,08
Immune	438,93
D0	403,72 ^c
D15	399,19 ^{cd}
D60	392,40 ^d
D120	457,07 ^b
D210	512,57 ^a
P value	
Castration	0,181
Days	<0,0001
Castration*Days	0,9364
SEM	2,938

SEM= Standard error of the mean. D0: weight at castration; and after castration D15: weight at 15d; D60: weight at 60d; D120: weight at 120d; D210: weight 210d. Means followed by different letters in the columns indicate difference ($P < 0,05$) through the t-Student method.

The results corroborate with the findings of another study (Janet et al., 2012), in which was observed that immune castration didn't impact weight gain. However, Roça et al. (2011), indicates an intermediary performance for the immune castrated animals when compared to non-castrated or surgically castrated bulls. Interestingly, another study (AMATAYAKUL-CHANTLER et al. 2013), concluded that animals who have undergone immune castration had a higher daily weight gain compared to animals subjected to surgical castration methods.

Furthermore, according to Gomes (2004), the weight loss on animals subjected to chemical and surgical castration is directly associated with the traditional castration methods, since they impact the animal wellness and can cause complications such as infections, myiasis, weight loss, and lastly, causing the death of the animal. A similar result was observed by Porto et al. (2001), comparing non-castrated crossbred *Bos Indicus* bulls with animals surgically castrated, a reduction of ~50% on the daily weight gain was observed in the two months following castration. In another study (CARVALHO et al. 2011) observed that 11-34% of the bull calves lost weight on the first 28d after surgical

castration.

Interestingly, in a review by Bretschneider (2005), comparing age and castration method (surgical and latex band), the weight loss increases in a quadratic manner with age of the animal at castration, what corroborates with the findings in this project, where animals lost weight until D60. However, by the D120 and D210, the animals present the higher weights in the groups and no difference ($P>0.05$) was observed between groups, indicating, therefore, that immune castration is an applicable method, since the weight gain was similar ($P>0.05$) to the other groups by the end of the experimental period, constituting a valuable technique regarding the animal wellness perspective, once it's non-invasive and doesn't bear the side effects observed for the surgical and chemical approach.

The body condition score (BCS), skin sub-cutaneous fat layer thickness (FLT) and carcass yield (CY), according to the castration methods are described in table 2.

Table 2. Carcass characteristics and body condition score on Nelore cattle non castrated and submitted to different castration methods, finished in *Urochloa decumbens* pasture.

Castration	BCS	FLT (mm)	CY (%)
Control	6,21 ^b	2,55	55,58
Surgical	6,95 ^a	3,40	51,64
Chemical	6,13 ^b	3,25	52,47
Immune	6,65 ^{ab}	3,20	52,95
P value	0,003	0,531	0,512
SEM	0,105	1,301	27,254

BCS: body condition score; FLT: skin sub-cutaneous fat layer thickness; CY: Carcass yield; SEM: standard error of the mean. Means with different letters in the columns are different ($P<0.05$) according to t-Student test.

The BCS was higher ($P<0.05$) in the surgical castrated animals when compared to the chemical and the control group, however the immune group didn't differ from the other groups. Interestingly, similar to the observed in our results, another study (KUSS et al. 2009), observed a difference on the finishing time when comparing non-castrated to castrated animals, the castrated animals presented a higher BCS (~3.5-4) in lesser time when compared to the non-castrated animals. Furthermore, according to Dias et al.

(2016), non-castrated animals present more muscles in the carcass due to the action of testosterone, also present lesser fat deposition including in the sub-cutaneous fat layer. Another important aspect is that the non-castrated animals have a more efficient utilization of the nutrients in the diet than the castrated animals, growing, therefore, in a faster rate (FIELD, 1971).

A fundamental remark is that the refrigeration of the carcass associated to a lower fat deposition, doesn't promote the needed protection against dehydration, impacting on the colour of the meat, reducing tenderness and reducing the price of the cuts (BRIDI, 2004). The minimum thickness expected by the industry for beef is 3mm, avoiding with that, penalties in the value of the carcass value (RIBEIRO et al. 2004).

In our study no difference for the FLT was observed between the groups, however in each treatment the mean values for EGS were higher than the minimum demanded by the industry (3mm). In accordance to our results, studies (COOK et al. 2000; RIBEIRO et al. 2004) compared non-castrated and immune castrated bulls and indicated no difference on FLT between the treatments. The same was observed when immune castrated bulls were compared to surgically castrated animals (AISSAT, 2002).

However, Seideman et al. (1982), identified a different result, observing a different ($P < 0.05$) FLT measure when comparing castrated and non-castrated animals. The castrated animals presented a higher FLT, the absence of the anabolic effect of androgenic hormones is indicated to be the probable cause of the observed increase in the fat layer. Similarly, animals subjected to immune castration presented higher FLT when compared to non-castrated bulls (AMATAYAKUL-CHANTLER et al., 2012; D'OCCHIO et al., 2001).

Regarding the carcass yield, no differences were observed between the castration methods. In accordance to our findings, two different studies using *Bos Taurus* bulls (Morgan et al. 1993) and Charolais, Nelore and crossbred bulls (RESTLE, 2000), didn't observe difference in the carcass yield, however non-castrated animals had heavier carcasses. In cattle with diverse genetic background, the non-castrated presented a higher carcass yield when compared to castrated animals (54.1 versus 51.6%) (PÁDUA et al. 2001). Furthermore, non-castrated animals presented heavier carcasses at slaughter and higher proportion of muscle on the carcass (CHAMPAGNE et al., 1969; ANDREO et al., 2013).

It's important to indicate that carcass yield is influenced by the sexual characteristics of the animal, therefore, non-castrated animals present higher carcass yield

due to the increased muscle presence in the carcass and less visceral fat deposition. (Restle et al., 1996). Lastly, Restle et al. (1996) and Pereira et al. (1977), observing non-castrated bulls and castrated with different methods concluded that non-castrated animals presented higher carcass yield than castrated animals, independently of the castration method used.

CONCLUSION

The castration methods didn't influence the weight of the animals, importantly the immune castration didn't impact the carcass yield and body condition score. Therefore, the importance of the immune castration and its practical application in the beef cattle finishing in pasture.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank CAPES for their financial support.

REFERENCES

- ABIEC, A. B. DAS I. E. DE C. - *Relatório anual 2017: Perfil da pecuária no Brasil*, 2017.
- AÏSSAT, D.; SOSA, J. M.; AVILA, D. M. DE; BERTRAND, K. P.; REEVES, J. J. Endocrine, growth, and carcass characteristics of bulls immunized against luteinizing hormone-releasing hormone fusion proteins. *Journal of Animal Science*, v.80, p. 2209-2213, 2002. <https://doi.org/10.1093/ansci/80.9.2209>.
- AMATAYAKUL-CHANTLER, S.; HOE, F.; JACKSON, J.A.; ROCA, R. O.; STENGNER, J. E.; KING, V.; HOWARD, R.; LOPRZ, E.; WALKER, J. Effects on performance and carcass and meat quality attributes following immunocastration with the gonadotropin releasing factor vaccine Bopriva or surgical castration of *Bos indicus* bulls raised on pasture in Brazil. *Meat Science*, v.95, p.78-84, 2013. doi: 10.1016/j.meatsci.2013.04.008. Epub 2013 Apr 15.
- AMATAYAKUL-CHANTLER, S.; JACKSON, J. A.; STEGNER, J.; KING, V.; RUBIO, L. M.; HOWARD, R.; LOPEZ, E.; WALKER, J. Immunocastration of *Bos indicus* x Brown Swiss bulls in feedlot with gonadotropin-releasing hormone vaccine Bopriva provides improved performance and meat quality.. *Journal of Animal Science*, v.

90, p. 3718-3728, 2012. doi: 10.2527/jas.2011-4826. Epub 2012 Jun 4.

ANDREO N. Influência da imunocastração nas características de carcaça e na qualidade da carne de bovinos e suínos. *Dissertação (Produção Animal)*, Universidade Estadual de Londrina, Londrina-PR. 7, 2013.

ANDREO, N.; BRIDI, A. M.; TARSITANO, M. A.; PERES, L. M.; BARBON, A. P. A. C.; ANDRADE, E. L.; PROHMANN, P. E. F. Influência da imunocastração (Bopriva®) no ganho de peso, características de carcaça e qualidade da carne de bovinos Nelore. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, v. 34, n. 6, suplemento 2, p. 4121-4132, 2013. DOI: 10.5433/1679-0359.2013v34n6Supl2p4121

BRETSCHNEIDER, G. Effects of age and method of castration on performance and stress response of beef male cattle: A review. *Livestock Production Science*, v. 97, n. 2, p. 89-100, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.livprodsci.2005.04.006>

BRIDI, A. M. Fatores que afetam a qualidade e o processamento dos produtos de origem animal. *Universidade Estadual de Londrina*, p. 2, 2004.

BRITO, T.R.; MOURA, M. S.; BUENO, J. P. R.; CARVALHO, F. S. R.; SILVA, C. R. Principais afecções que acometem bovinos pós-castração cirúrgica. *PUBVET*, Londrina, V. 5, N. 6, Ed. 153, Art. 1030, 2011.

CARVALHO, F. S. R.; SILVA, C. R.; HOE, F. Impacto da castração cirúrgica no ganho de peso e estado clínico de bovinos de corte, *A Hora Veterinária Revista de Ensino Pós Universitário*, Porto Alegre, v. 179, p 18-21, 2011. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-10517>.

CHAMPAGNE, J. R.; CARPENTER, J.W.; HENTGES Jr, J. F.; PALMER, A. Z.; KOGER, M. Feedlot performance and carcass characteristics of young bulls and steers castrated at four ages. *Journal of Animal Science*, v.29, n.6, p.887-890, 1969. <https://doi.org/10.2527/jas1969.296887x>

COOK, R. B.; POPP, J. D.; KASTELIC, J. P.; ROBNINS, S.; HARLAND, R. The effects of active immunization against GnRH on testicular development, feedlot performance, and carcass characteristics of beef bulls. *Journal of Animal Science*, v.78, p. 2778–2783, 2000. DOI: 10.2527/2000.78112778x.

DE LIMA, D. V. Castração de machos bovinos em diferentes idades, utilizando ácido láctico e papaína. [Tese] Universidade Federal de Viçosa. VIÇOSA MINAS GERAIS BRASIL 2014.

DIAS, A. M.; OLIVEIRA, L. B. de; ÍTAVO, L. C. V.; MATEUS, R. G.; GOMES, E. N. O.; COCA, F. O. do C. G.; ÍTAVO, C. C. B. F.; NOGUEIRA, E.; MENEZES, B. B. de; MATEUS, R. G. Terminação de novilhos Nelore, castrados e não castrados, em confinamento com dieta alto grão. *Revista Brasileira de Saude e Producao Animal*, v. 17, n. 1, p. 45–54, 2016. ISSN 1519 9940.

D’OCCHIO, MJ; ASPDEN, WJ.; TRIGG, T E. Sustained testicular atrophy in bulls actively immunized against GnRH: potential to control carcass characteristics. *Animal Reproduction Science*, v. 66, p. 47-58, 2001. PMID: 11343841

DUNSHEA, F. R.; D’SOUZA, D. N.; PETHICK, D. W.; HARPER, G. S.; WARNER, R. D. Effects of dietary factors and other metabolic modifiers on quality and nutritional value of meat. *Meat Science*. v. 71, n. 1, p. 8-38, 2005. DOI: 10.1016/j.meatsci.2005.05.001.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. *Gado de corte*, 2016.

FIELD, R. A. Effect of Castration on Meat Quality and Quantity. *Journal of Animal Science*, v. 32, n. 5, p. 849–858, 1971. DOI: 10.2527/jas1971.325849x.

GOMES, L. C. G. Quando castrar bovinos. *Revista Cultivar Bovinos*. Pelotas, v. 8, 2004.

JANETT, F.; GERIG, T.; TSCHUOR, A. C.; AMATAYAKUL-CHANTLER, S.; WALKER, J.; HOWARD, R.; BOLLWEIN, H.; THUN, R. Vaccination against gonadotropin-releasing factor (GnRF) with Bopriva significantly decreases testicular development, serum testosterone levels and physical activity in pubertal bulls. *Theriogenology*, v.78, p. 182–188, 2012. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2012.01.035.

ÍTAVO, L. C. V.; DIAS, A. M.; ÍTAVO, C. C. B. F.; EUCLIDES FILHO, K.; MORAIS, M. G.; SILVA, F. F.; GOMES, R. C.; SILVA, J. B. P. Desempenho produtivo, características de carcaça e avaliação econômica de bovinos cruzados, castrados e não-castrados, terminados em pastagens de *Brachiaria decumbens*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v. 60, n. 5, p. 1157-1165, 2008.

<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352008000500018>.

KUSS, F.; LÓPEZ, J.; BARCELLOS, J. O. J.; RESTLE, J., MOLETTA, J. L.; PEROTTO, D. Características da carcaça de novilhos não-castrados ou castrados terminados em confinamento e abatidos aos 16 ou 26 meses de idade. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 38, n. 3, p. 515–522, 2009. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982009000300017>.

MIGUEL, G. Z.; FARIA, M. H.; ROÇA, R. O.; SANTOS, C. T.; SUMAN, S. P.; FAITARONE, A. B.; DELBEM, N. L.; GIRAO, L. V.; HOMEM, J. M.; BARBOSA, E. K.; SU, L. S.; RESENDE, F. D.; SIQUEIRA, G. R., MOREIRA, A. D.; SAVIAN, T. V. Immunocastration improves carcass traits and beef color attributes in Nellore and Nellore x Aberdeen Angus crossbred animals finished in feedlot, *Meat Science*, v.96, p. 884-891, 2013. doi: 10.1016/j.meatsci.2013.08.030. Epub 2013 Aug 30.

MACHADO, D. S.; ALVES FILHO, D. C.; BRONDANI, I. L.; ARGENTA, F. M.; PEREIRA, L. B.; SILVA, M. A. Componentes não carcaça de novilhos de corte submetidos à castração cirúrgica ou imunológica. *Ciência Animal Brasileira*, v.19, p.1-19, e-47923, 2018. <http://orcid.org/0000-0002-2406-280X>.

MARTÍ, S.; REALINI, C. E.; BACH, A.; PÉREZ-JUAN, M.; DEVANT, M. Effect of castration and slaughter age on performance, carcass, and meat quality traits of Holstein calves fed a high-concentrate diet. *Journal of Animal Science*, v. 91, p. 40-1129, 2013. DOI: 10.2527/jas.2012-5717.

MORGAN, J.B.; WHEELER, T.L.; KOOHMARAIE, M.; SAVELL, J. W.; CROUSE, J. D.. Meat tenderness and the calpain proteolytic system in longissimus muscle of young bulls and steers. *Journal of Animal Science*, v.71, n.6, p.1471-1476, 1993. <https://doi.org/10.2527/1993.7161471x>.

NICHOLSON, M. J.; BUTTERWORTH, M. H. A guide to condition scoring of zebu cattle. *Addis Ababa: International Livestock Centre for Africa*, p. 29, 1986.

OLIVER, W. T.; MCCAULEY, I.; HARRELL, R. J.; SUSTER, D.; KERTON, D. J.; DUNSHEA, F. R. A gonadotropin-releasing factor vaccine (Improvac) and porcine somatotropin have synergistic and additive effects on growth performance in group-housed boars and gilts. *Journal of Animal Science*, Champaign, v. 81, n. 8, p. 1959-1966,

2003. DOI: 10.2527/2003.8181959x.

PÁDUA, J.T.; SAINZ, R.D.; PRADO, C.S. Efeitos de grupos genéticos, castração e anabolizantes no desempenho e nas carcaças de bovinos. In: Reunião Anual Da Sociedade Brasileira De Zootecnia, 38. *Anais...* Piracicaba: Sociedade Brasileira de Zootecnia, p.1518-1519, 2001.

PARANHOS DA COSTA, M. J. R. COSTA E SILVA, E.V.; CHIQUITELLI NETO, M.; ROSA, M.S. Contribuição dos estudos de comportamento de bovinos para implementação de programas de qualidade de carne. In: Albuquerque, F. S. (org.) *Anais do XX Encontro Anual de Etologia*, Sociedade Brasileira de Etologia: Natal, RN, p. 71-89, 2002.

PEREIRA, J.C.C., RIBEIRO, R.M.P., VAL, L.J.L. do. Efeito da idade e do método de castração sobre o desenvolvimento ponderal e rendimento de carcaça de bovinos azebuados em regime de pasto. *Arq. Esc. Vet. UFMG*, v.29, n.1, p.77-78, 1977.

PEREIRA, P.A.C.; FERREIRA, A.M.; CARVALHO, L.B.; VERNEQUE, R. S.; HENRY, M.; LEITE, R. C.. Comparison of reproductive efficiency indexes by different methods in dairy cattle herds. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* v.65, p. 1383-1388, 2013. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352013000500016>.

PORTO, J. C. A.; FEIJÓ, G. L. D.; SILVA, J. M. da; GOMES, A.; KICHEL, A. N.; CIOFFI, J. C. Desempenho e características de carcaça de bovinos F1 pardo suíço corte x nelore, inteiros ou castrados em diferentes idades. *Embrapa Gado de Corte*, p.1-17, 2001.

RESTLE, J.; GRASSI, C.; FEIJÓ, G.L.D. Características das carcaças e da carne de bovinos inteiros ou submetidos a duas formas de castração, em condições de pastagem. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.25, n.2, p.334-344, 1996.

RESTLE, J.; VAZ, F.N.; FEIJÓ, G.L.D.; BRONDANI, I. L.; ALVES FILHO, D. C.; BERNARDES, R. A. C.; FATURI, C.; PACHECO, P. S. Características de carcaça de bovinos inteiros ou castrados de diferentes composições raciais Charolês x Nelore. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.29, n.5, p.1371-1379, 2000.

RIBEIRO, E. L.; HERNANDEZ, J. A.; ZANELLA, E. L.; SHIMOKOMAKI, M.;

PRUDÊNCIO-FERREIRA, S. H.; YOUSSEF, E.; RIBEIRO, H. J.; BOGDEN, R.; REEVES, J. J. Growth and carcass characteristics of pasture fed LHRH immunocastrated, castrated and intact *Bos indicus* bulls. *Meat Science*, v. 68, ed. 2, p. 285-290, 2004. DOI: 10.1016/j.meatsci.2004.03.008.

ROÇA RO, HOE F, ARAÚJO AP, COSTA QPB, ANDRADRE EM, ATHAYDE NB, DELBEM NLC, GIRÃO LVC, SIGARINI C, POLIZEL NETO A. Imunocastração de bovinos criados em pasto: composição centesimal e propriedades sensoriais da carne. Universidade Estadual de São Paulo – UNESP, Botucatu – SP, 2013.

SAS Institute. 2010. SAS User's guide: *Statistics*. Version 9.3. Cary, NC.

SEIDEMAN, S.C.; CROSS, H.R.; OLTJEN, R.R.; Schanbacher, B. D. Utilization of the intact male for red meat production: a review. *Journal of Animal Science*, v.55, n.4, p.826-840, 1982.

VAZ, F. N.; FLORES, J. L. C.; VAZ, R. Z.; PASCOAL, L. L.; ÁVILA, M. M. Características de carcaça e biometria testicular de machos bovinos super jovens não castrados de diferentes grupos genéticos. *Ciência Animal Brasileira*, v. 13, n. 3, p. 306-314, 2012. DOI:10.5216/cab.v13i3.17511.

VIVACQUA, M. Avaliação dos efeitos de uma solução à base de papaína e ácido láctico indicada para a castração química em bovinos. [Dissertação]. UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO – UENF Campos dos Goytacazes – RJ 2013.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos resultados, os indicadores comportamentais concluíram que animais castrados pelo método imunológico apresentaram menor caracterização à dor. Ademais, pode-se verificar sugestivamente que o método cirúrgico pode ocasionar um limiar maior

dor quando comparado ao químico e imunológico, além de ocasionar dor aguda durante o procedimento.

Ao verificar a eficiência dos métodos de castração frente aos parâmetros reprodutivos, concluímos que a castração imunológica é sim uma alternativa viável e eficiente por se tratar de uma técnica menos invasiva, capaz de suprimir a produção de testosterona, desenvolvimento testicular, ocasionando atrofia dos testículos, favorecendo o bem-estar animal, diminuindo o estresse, evitando assim os riscos e problemas que são enfrentados no pós-operatório da castração cirúrgica.

Na avaliação dos parâmetros corporais destes animais, os métodos de castração não influenciaram o peso dos animais, sendo que a castração imunológica não prejudicou as características de carcaça e o escore de condição corporal, demonstrando sua importância e aplicação prática na fase de terminação de bovinos de corte em pastagem.

Desta forma, este trabalho mostra que o método de castração imunológico é eficiente e satisfatório, por ser uma técnica menos invasiva, quando comparado ao cirúrgico e químico. A mesma, teve como característica reduzir a dor e estresse, cessar a produção espermática, e não interferindo na qualidade final da carcaça desses animais.