

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

**DESENVOLVIMENTO SEXUAL E REPRODUTIVO DE
TOUROS *Bos indicus* E *Bos taurus* ADAPTADOS AO CLIMA
TROPICAL: EFEITOS DA SELEÇÃO PARA MAIOR PESO
PÓS-DESMAMA NA RAÇA NELORE**

Marcelo Sant'Ana Borges

Médico Veterinário

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

**DESENVOLVIMENTO SEXUAL E REPRODUTIVO DE
TOUROS *Bos indicus* E *Bos taurus* ADAPTADOS AO CLIMA
TROPICAL: EFEITOS DA SELEÇÃO PARA MAIOR PESO
PÓS-DESMAMA NA RAÇA NELORE**

Discente: Marcelo Sant'Ana Borges

Orientador: Prof. Dr. Fabio Morato Monteiro

Coorientadora: Prof. Dra. Maria Eugênia Zerlotti Mercadante

**Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de
Jaboticabal, como parte das exigências para
a obtenção do título de Doutor em Ciências
Veterinárias**

2025

B732d

Borges, Marcelo Sant'Ana

Desenvolvimento sexual e reprodutivo de touros *Bos indicus* e *Bos taurus* adaptados ao clima tropical : efeitos da seleção para maior peso pós-desmama na raça Nelore / Marcelo Sant'Ana Borges. -- Jaboticabal, 2025

94 p. : il., tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Fabio Morato Monteiro

Coorientadora: Maria Eugênia Zerlotti Mercadante

1. Reprodução animal. 2. Andrologia veterinária. 3. Bovinos Reprodução. 4. Puberdade. I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: DESENVOLVIMENTO SEXUAL E REPRODUTIVO DE TOUROS BOS INDICUS E BOS TAURUS ADAPTADOS AO CLIMA TROPICAL: EFEITOS DA SELEÇÃO PARA MAIOR PESO PÓSDESMAMA NA RAÇA NELORE

AUTOR: MARCELO SANT'ANA BORGES

ORIENTADOR: FABIO MORATO MONTEIRO

COORIENTADORA: MARIA EUGÊNIA ZERLOTTI MERCADANTE

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Ciências Veterinárias, área: Morfofisiologia e Reprodução Animal pela Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente
FABIO MORATO MONTEIRO
Data: 28/02/2025 09:46:37-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Pesquisador Dr. FABIO MORATO MONTEIRO (Participação Virtual)
Instituto de Zootecnia IZ / SertãozinhoSP

Documento assinado digitalmente
RUBENS PAES DE ARRUDA
Data: 18/02/2025 18:22:14-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. RUBENS PAES DE ARRUDA (Participação Virtual)
Departamento de Reprodução Animal / FMVZ USP Pirassununga/SP

Documento assinado digitalmente
MAIRA BIANCHI RODRIGUES ALVES
Data: 25/02/2025 15:55:28-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. MÁIRA BIANCHI RODRIGUES ALVES (Participação Virtual)
Departamento de Patologia, Reprodução e Saúde Única / FCAV UNESP Jaboticabal

Documento assinado digitalmente
ANDRE MACIEL CRESPILO
Data: 25/02/2025 15:22:07-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

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



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



Profa. Dra. LINDSAY UNNO GIMENES (Participação Virtual)
Departamento de Patologia Reprodução e Saúde Única / FCAV UNESP Jaboticabal



Documento assinado digitalmente

LINDSAY UNNO GIMENES

Data: 25/02/2025 16:10:14-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Jaboticabal, 14 de fevereiro de 2025

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Marcelo Sant'Ana Borges, nasceu 11 de fevereiro de 1994 em São Paulo, SP. Em 2014 ingressou no curso de graduação em Medicina Veterinária pela Universidade Santo Amaro (UNISA), São Paulo, SP. Durante a graduação realizou iniciação científica sob orientação do Prof. Dr. André Maciel Crespilho, com monografia intitulada "Efeito paradoxal do antioxidante quercetina sobre a cinética e integridade de espermatozoides caprinos submetidos à criopreservação". Em 2019, iniciou o Mestrado em Produção Animal Sustentável pelo Instituto de Zootecnia em Sertãozinho, SP. Sob orientação da Profa. Dra. Maria Eugênia Zerlotti Mercadante e Coorientação do Prof. Dr. Fabio Morato Monteiro, defendeu a dissertação intitulada "Relação entre consumo alimentar residual e parâmetros seminais e ultrassonografia testicular de touros da raça Nelore". Em 2021, ingressou no Doutorado no programa Ciências Veterinárias da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP) em Jaboticabal, SP, sob a orientação do Prof. Dr. Fabio Morato Monteiro e Coorientação da Profa. Dr. Maria Eugênia Zerlotti Mercadante.

Sou um bom mestre enquanto continuo sendo um aluno.

(Santo Agostinho)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela vida, saúde e força concedidas nos momentos de maior desafio, pela sabedoria e coragem para superar dificuldades, e por iluminar cada passo desta trajetória.

À minha querida família — Maria Aparecida (mãe), Walter (pai) e Daniel (irmão) — pelo amor incondicional, apoio constante e compreensão em todas as fases desta jornada. Vocês foram meu porto seguro e a maior inspiração para perseverar, mesmo diante dos obstáculos.

Expresso minha profunda gratidão aos meus orientadores, Professores Fabio M. Monteiro e Maria Eugênia, assim como André M. Crespilho, pela paciência, dedicação incansável, transmissões valiosas de conhecimento e confiança depositada neste projeto. Sem a orientação firme e generosa de vocês, este trabalho não teria sido possível.

Aos amigos Ricardo, Léo, David, Lorena, Luana e Karine, agradeço pela amizade sincera e pela partilha tanto dos momentos de alegria quanto dos desafios. Agradeço em especial aos amigos do laboratório, Letícia, Marina, Laura e Pedro, pelo companheirismo diário, colaboração nas atividades e pela amizade sólida construída ao longo desta caminhada.

Ao Instituto de Zootecnia, pela infraestrutura, suporte e acolhimento durante a realização do experimento. Meu reconhecimento especial aos funcionários Leu, Batata, Valdir, Fran, Fra, Clésio e Pedrão, colaboradores que transcenderam o profissionalismo e se tornaram verdadeiros amigos, tornando o ambiente de trabalho leve e acolhedor.

Este trabalho contou com o apoio fundamental da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), processos nº 2021/11922-2 e nº 2024/08484-1.

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

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1. Caracterização da adaptabilidade das raças Nelore e Caracu ao clima tropical 2	
2.2. Desenvolvimento sexual em bovinos	3
2.2.1. Aspectos fisiológicos do desenvolvimento sexual.....	3
2.2.2. Impactos do manejo nutricional na reprodução	6
2.2.3. Seleção para características reprodutivas	8
2.3. Métodos para Avaliação Reprodutiva	10
2.3.1. Biometria Testicular	10
2.3.2. Ultrassonografia Testicular e Doppler	11
2.3.3. Avaliação da cinética espermática pelo sistema CASA (Computer-Assisted Sperm Analysis)	13
2.3.4. Punção Aspirativa e Histologia Testicular	15
REFERÊNCIAS	16
CAPÍTULO 2 – IMPACTO DA SELEÇÃO GENÉTICA PARA PESO PÓS-DESMAMA NO DESENVOLVIMENTO REPRODUTIVO DE TOUROS DA RAÇA NELORE	32
1. INTRODUÇÃO.....	34
2. MATERIAL E MÉTODOS	35
2.1. Animais	35
2.2. Ultrassonografia testicular	37
2.3. Avaliação de sêmen.....	38
2.4. Punção aspirativa testicular.....	39

2.5.	Histologia testicular	41
2.6.	Análise estatística	42
3.	RESULTADOS	42
3.1.	Biometria testicular.....	42
3.2.	Ultrassonografia	45
3.3.	Avaliação seminal	47
3.4.	Citologia aspirativa.....	49
3.5.	Histologia	50
4.	DISCUSSÃO.....	51
5.	CONCLUSÃO	54
	REFERÊNCIAS	54
	CAPÍTULO 3 – COMPARAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO REPRODUTIVO ENTRE TOUROS JOVENS <i>BOS INDICUS</i> E <i>BOS TAURUS</i> ADAPTADOS AO CLIMA TROPICAL	60
1.	INTRODUÇÃO.....	62
2.	MATERIAL E MÉTODOS	63
2.1.	Animais	63
2.2.	Ultrassonografia testicular	64
2.3.	Avaliação de sêmen.....	65
2.4.	Punção aspirativa testicular.....	66
2.5.	Histologia testicular	67
2.6.	Análise estatística	67
3.	RESULTADOS	68
3.1.	Biometria testicular.....	68
3.2.	Ultrassonografia	70
3.3.	Avaliação Seminal.....	72
3.4.	Citologia aspirativa.....	75

3.5. Histologia	76
4. DISCUSSÃO.....	76
5. CONCLUSÃO	79
REFERÊNCIAS	79



Protocolo nº 343-2022

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

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo intitulado “**DESENVOLVIMENTO SEXUAL E REPRODUTIVO DE TOUROS *Bos indicus* E *Bos taurus* ADAPTADOS AO CLIMA TROPICAL: EFEITOS DA SELEÇÃO PARA MAIOR PESO PÓS-DESMAMA NA RAÇA NELORE**”, protocolo nº “**343-2022**”, sob a responsabilidade de **Fabio Morato Monteiro, Maria Eugênia Zerlotti Mercadante, Marcelo Sant’Ana Borges, Marina de Oliveira Silva, André Maciel Crespilho**, que envolve a utilização de bovinos para fins de pesquisa científica – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto no 6.899 de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), tendo sido aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) do INSTITUTO DE ZOOTECNIA, em reunião de **10/02/2022**.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica () Treinamento
Vigência do Projeto	01/03/2022 a 20/12/2024
Espécie/Linhagem	<i>Bos taurus indicus/Nelore e Bos taurus taurus/Caracu</i>
No. de Animais	380
Peso/Idade	250 kg /12 meses
Sexo	380 machos
Origem	CAPBC

José Evandro de Moraes
 Presidente CEUA-IZ

DESENVOLVIMENTO SEXUAL E REPRODUTIVO DE TOUROS *Bos indicus* E *Bos taurus* ADAPTADOS AO CLIMA TROPICAL: EFEITOS DA SELEÇÃO PARA MAIOR PESO PÓS-DESMAMA NA RAÇA NELORE

RESUMO – Esta tese teve como objetivos avaliar os efeitos da seleção genética para peso pós-desmama no desenvolvimento reprodutivo de touros jovens da raça Nelore, e comparar o desenvolvimento sexual de touros *Bos indicus* (Nelore) e *Bos taurus* adaptados ao clima tropical (Caracu). Foram conduzidos dois experimentos. No primeiro, foram utilizados 76 touros jovens da raça Nelore provenientes de linhas genéticas distintas: Nelore Seleção (NeS, n = 53) e Nelore Controle (NeC, n = 23). Já no segundo, foram comparados 44 touros Nelore e 41 Caracu. Os animais em ambos os estudos tinham idade inicial de $14 \pm 0,7$ meses e foram avaliados dos 14 aos 24 meses de idade. Em ambos os experimentos, realizaram-se avaliações a cada aproximadamente 58 dias, totalizando seis mensurações; envolvendo: biometria testicular, ultrassonografia testicular em modo B e doppler do plexo pampiniforme, avaliação seminal e punção aspirativa testicular. Aos 18 meses, amostras testiculares de um subgrupo de touros foram coletadas para análise histológica. Os dados foram analisados por modelos mistos utilizando medidas repetidas no tempo. No primeiro estudo, touros da linha NeS apresentaram maiores médias de perímetro escrotal, volume testicular e velocidade do pico diastólico, e menores índices de resistência e pulsatilidade vascular em relação à linha NeC, sugerindo desenvolvimento testicular mais acentuado sem prejuízo à qualidade seminal ou estrutura histológica. No segundo estudo, touros Caracu exibiram maiores valores de perímetro escrotal, volume testicular e velocidade dos picos sistólico e diastólico em comparação aos Nelore, além de melhores parâmetros seminais e citológicos. Touros Nelore apresentaram maior índice de resistência e pulsatilidade vascular, podendo indicar melhor capacidade de termorregulação testicular. Conclui-se que a seleção genética para ganho de peso pós-desmama em bovinos Nelore não compromete o desenvolvimento reprodutivo, promovendo incremento em características biométricas testiculares. Ainda, touros Caracu demonstram desenvolvimento sexual mais precoce aos Nelore. Além disso, os touros Nelore exibem parâmetros vasculares do plexo pampiniforme que podem sugerir melhor termorregulação.

Palavras-chave: Seleção genética; maturação sexual; termorregulação testicular; desenvolvimento testicular, citologia testicular.

**SEXUAL AND REPRODUCTIVE DEVELOPMENT OF *Bos indicus* AND
TROPICALLY ADAPTED *Bos taurus* BULLS: EFFECTS OF SELECTION FOR
HIGHER POST-WEANING WEIGHT IN THE NELORE BREED**

ABSTRACT – This thesis investigated the effects of genetic selection for post-weaning weight on the reproductive development of young Nelore bulls and compared the sexual development of *Bos indicus* (Nelore) and tropically adapted *Bos taurus* (Caracu) bulls. Two experimental studies were performed. Study 1 involved 76 Nelore bulls from distinct genetic lines (Selection: n = 53; Control: n = 23), whereas Study 2 compared 44 Nelore and 41 Caracu bulls. In both studies, bulls aged 14 ± 0.7 months were evaluated from 14 to 24 months of age, with six assessments performed at approximately 58-day intervals. The measurements included testicular biometry, B-mode ultrasonography, Doppler of the pampiniform plexus, semen analysis, and testicular fine-needle aspiration cytology. At 18 months, a subgroup underwent testicular biopsy for histological analysis. Data were analyzed using mixed models for repeated measurements. Selection line Nelore bulls showed increased scrotal circumference, testicular volume, and end-diastolic velocity and decreased vascular resistance and pulsatility indexes compared to controls, indicating enhanced testicular development without adverse effects on semen quality or testicular structure. In Study 2, Caracu bulls exhibited greater scrotal circumference, testicular volume, peak systolic and diastolic velocities, and superior seminal and cytological parameters than Nelore bulls. Nelore bulls demonstrated higher vascular resistance and pulsatility indices, potentially suggesting improved testicular thermoregulation. In conclusion, genetic selection for post-weaning weight in Nelore cattle did not impair reproductive development but rather promoted biometric testicular gains. Caracu bulls demonstrated earlier sexual development, whereas Nelore bulls displayed vascular traits of the pampiniform plexus, suggesting efficient thermoregulation.

Keywords: Genetic selection; sexual maturation; testicular thermoregulation; testicular development; testicular cytology.

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

A seleção genética de animais com capacidade superior de ganho de peso representa uma importante ferramenta para aumentar a produção de carne bovina. Sabe-se que a seleção para animais mais pesados possui forte interação com o ambiente nutricional (Hay e Roberts, 2018). Entretanto, existem poucos estudos sobre a influência da seleção genética nas características reprodutivas e no desenvolvimento sexual, principalmente em machos. A maioria dos programas de melhoramento genético utilizam o perímetro escrotal (PE) como um dos critérios de seleção de melhoramento genético animal, principalmente por seu baixo custo e fácil mensuração (Siqueira et al., 2013). Contudo, não se pode afirmar que a seleção com base apenas no PE seja representativa do potencial de fertilidade dos touros quando adultos (Penitente-Filho et al., 2018). Assim, outros parâmetros reprodutivos são de igual importância e deveriam ser levados em consideração para a decisão de seleção ou descarte de possíveis reprodutores (Carvalho et al., 2023).

Sendo a reprodução um dos principais componentes da produção de bovinos, a relação entre maior ganho de peso e parâmetros reprodutivos deve ser elucidada. Indivíduos selecionados para maior ganho de peso possuem metabolismo distinto à animais não selecionados, e essa diferença pode estar relacionada com a reprodução, seja por distribuição energética entre os diferentes sistemas (Bourgon et al., 2017) ou por regulação hormonal (Brito et al., 2007). Principalmente quando é observado a precocidade e a capacidade reprodutiva de touros.

A capacidade reprodutiva do touro é de grande importância, uma vez que este é responsável pela multiplicação do material genético desejável. O exame andrológico em bovinos permite avaliar o potencial reprodutivo do touro, o que possibilita a utilização de animais possivelmente mais férteis, e o descarte de animais subférteis e inférteis, além da identificação e tratamento de afecções reprodutivas, bem como evitar a transferência de características não desejáveis para a prole (Barth, 2018).

Esta tese foi dividida em três capítulos, sendo que o primeiro representa a revisão bibliográfica para o embasamento científico, já o segundo e o terceiro são manuscritos experimentais. No primeiro manuscrito, foi proposta a ideia com o intuito

de elucidar questionamentos sobre o impacto do melhoramento genético para características de desempenho, como maior peso à desmama, no desenvolvimento reprodutivo de touros Nelore. Já o segundo manuscrito, foi proposto o estudo para comparar o desenvolvimento reprodutivo de touros zebuínos (Nelore) e taurinos adaptados ao clima tropical (Caracu), bem como caracterizar características reprodutivas das duas raças.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Caracterização da adaptabilidade das raças Nelore e Caracu ao clima tropical

As subespécies *Bos indicus* e *Bos taurus* têm desempenhado papéis complementares na bovinocultura tropical, especialmente em regiões com condições ambientais desafiadoras. Os animais *Bos indicus* são amplamente adaptados a climas tropicais e destacam-se pela resistência a altas temperaturas, parasitas e manejo extensivo (Burrow, 2012; Porto-Neto et al., 2013). Já animais *Bos taurus*, apesar de origem em climas temperados, incluem algumas populações que desenvolveram adaptabilidade a ambientes tropicais, por exemplo o Caracu, combinando rusticidade com características de produção desejáveis (McManus et al., 2009).

Na pecuária brasileira, a raça Nelore (*Bos indicus*) representa um dos pilares da produção. Predominante no rebanho nacional, associa a adaptabilidade e alta resistência em diferentes estratégias de produção, principalmente em sistema de manejo extensivo (Faria et al., 2015; Portes et al., 2020). Em contrapartida, o Caracu (*Bos taurus*) é uma raça taurina considerada adaptada ao clima tropical que combina a rusticidade com a produtividade, se mostrando uma alternativa viável para o setor pecuário (Bonilha et al., 2008; Lima et al., 2020; Abduch et al., 2024).

É importante elucidar as particularidades fisiológicas, principalmente no que diz respeito ao sistema reprodutivo entre as duas subespécies. A raça Nelore apresenta características que a tornam mais adaptada a climas com altas temperaturas e elevada umidade, como maior superfície corporal, resistência a parasitas, coloração clara dos pelos e escura da pele, maior número de glândulas sudoríparas, em comparação às raças taurinas (Lima et al., 2020). Essa raça possui testículos

alongados e mais estreitos, maior quantidade de glândulas sudoríparas no escroto, assim como maior comprimento da artéria testicular proporcionalmente ao tamanho testicular. Essas características propiciam melhor termorregulação testicular (Brito et al., 2004a).

A raça Caracu é considerada um taurino adaptado ao clima tropical, sendo que a raça apresenta características de termotolerância (Pires et al., 2021), resistência a parasitas (Abduch et al., 2024), bem como boa capacidade reprodutiva em sistema extensivo à pasto (McManus et al., 2009). De maneira geral, os animais taurinos apresentam maior maciez da carne em comparação aos zebuínos, e a raça Caracu não é uma exceção (Bonilha et al., 2008). Essa característica faz do Caracu uma alternativa interessante para pecuaristas que buscam a criação de taurinos puros adaptados ou como estratégia em cruzamentos direcionados a fim de aliar rusticidade com qualidade da carne, resultando em animais mais resistentes e economicamente vantajosos (ABCC, 2025).

Em estudo avaliando a tolerância à altas temperaturas das raças Caracu e Nelore, Lima et al. (2020) destacaram grande adaptação das duas raças. Entretanto, os animais Caracu apresentaram maior temperatura na superfície dorsal quando comparados aos animais Nelore. Ainda, a raça taurina demonstrou aumento da taxa respiratória quando avaliados em temperaturas mais altas, enquanto a raça Nelore não apresentou alterações significativas. Já Pires et al. (2021), trabalhando com as mesmas raças, observaram maior ganho médio diário para animais Caracu, desempenho característico dos animais taurinos quando se compara com animais zebuínos. Esses mesmos autores observaram excelente performance de ganho de peso e adaptabilidade ao clima tropical das duas raças. Isso demonstra o grande potencial das duas raças na produção de carne em climas tropicais, que constantemente são considerados desafiadores para os produtores.

2.2. Desenvolvimento sexual em bovinos

2.2.1. Aspectos fisiológicos do desenvolvimento sexual

O desenvolvimento sexual de touros é o processo que tornam os animais reprodutores adequados para a transmissão de material genético. A redução da idade

à puberdade habilita a reprodução de animais cada vez mais jovens, resultando em redução do intervalo entre gerações e aumento do ganho genético (Brito, 2021). O início da puberdade está relacionado com a associação da idade e peso do animal, que é impactado pelo manejo nutricional e sanitário da fazenda (Engelken, 2008). Apesar disso, McGowan et al. (2012) afirmam que o desenvolvimento testicular foi ajustado de maneira mais satisfatória quando o peso foi utilizado no modelo não linear ao invés da idade.

Após o nascimento do macho bovino, por volta do primeiro mês de vida, as células de Leydig fetais sofrem o processo de degeneração e são substituídas por células de Leydig adultas e células de Sertoli indiferenciadas, estas últimas possuem aumento acelerado nesse período (Sinowatz e Amselgruber, 1986; Wrobel, 1990). Esses eventos ocorrem devido o estímulo ocasionado pelo aumento do hormônio luteinizante (LH), que é induzido pelo aumento de frequência dos pulsos do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH; Rawlings et al., 2008). Essa alta do LH está relacionada com a supressão da secreção de gonadotrofina pelos hormônios andrógenos derivados dos testículos e pelo estradiol (Rawlings et al., 2008).

No período pré-púbere as concentrações do hormônio folículo estimulante (FSH) e da inibina também estão elevadas e diminuem quando há o início do rápido crescimento testicular (Miyamoto et al., 1989; Evans et al., 1996). A associação da inibina com a regulação do FSH, nessa fase, não é bem estabelecido (Rawlings et al., 2008; McGowan et al., 2018). Nesse período, há proliferação de pré-espermatogônias e surgimentos de algumas espermatogônias, posteriormente há o aparecimento dos espermatócitos primários (Curtis e Amann, 1981).

Ao final do elevado nível de LH, há acentuada diminuição do FSH e da inibina, nesse momento ocorre o início da espermatogênese (Rawling et al., 2008). O FSH pode estar relacionado com a proliferação das células de Sertoli no período de pré-puberdade (Bagu et al., 2004). Portanto, entre as fases de pré-puberdade até puberdade, as células de Sertoli diminuem sua capacidade de proliferação gradativamente (Staub e Johnson, 2018). Posteriormente, estabelecem junções estreitas entre si, a fim de contribuir para a formação da barreira hematotesticular (Dym e Fawcett, 1970; Staub e Johnson, 2018; Michalek et al., 2024). A quantidade

de células de Sertoli é importante para determinar a produção espermática diária (Staub e Johnson, 2018).

O início da puberdade normalmente ocorre após uma redução da secreção de hormônios gonadotróficos, aumento da testosterona, início da espermatogênese e, conseqüentemente, aparecimento de células espermáticas no ejaculado (Amann, 1983; Aravindakshan et al., 2000). Esses eventos ocorrem concomitante a um acelerado crescimento testicular que acontece a partir de 4 a 8 meses (dependendo da raça), isso é devido ao aumento do diâmetro e comprimento dos túbulos seminíferos, aumento de camadas tubulares (pré-espermatogônias, células pré-Sertoli e espermatócitos primários), além do aumento da quantidade de células de Leydig no interstício testicular (Curtis e Amann, 1981; Brito, 2024; Michałek et al., 2024).

A puberdade é o evento do desenvolvimento sexual que torna o touro capaz de se reproduzir, ou seja, é quando o ejaculado do touro possui espermatozoides suficiente e em condições de induzir uma gestação (Brito, 2021). Segundo Wolf et al. (1965), o início da puberdade em bovinos pode ser definido quando o primeiro ejaculado contiver pelo menos 50 milhões de espermatozoides e quantidade de células móveis mínima de 10%.

A idade à puberdade é diferente entre as subespécies e raças bovinas, sabe-se que animais de raças zebuínas (*Bos indicus*; 14,8 – 19,7 meses de idade) são mais tardios quando comparados com animais de raças taurinas (*Bos taurus*; 7,8 – 11,7 meses de idade) (Brito, 2021). Essa diferença está relacionada com início tardio do processo de espermatogênese dos animais zebuínos. Entretanto, uma vez estabelecido, este desenvolvimento ocorre em velocidade aproximada entre as raças, alcançando a maturidade sexual no mesmo intervalo de tempo (Brito et al., 2004b; Aponte et al., 2005).

A maturidade sexual é definida quando o touro apresenta o ejaculado, no exame andrológico, considerado satisfatório, sendo considerado quando o ejaculado contiver ao menos 50% de espermatozoides móveis e 70% de espermatozoides morfologicamente normais, ou seja, quando um touro pode ser utilizado para a reprodução e produzir resultados de interesse para a indústria (Brito et al., 2004b; CBRA, 2013, Chenoweth e Lorton, 2022). Uma das principais diferenças entre touros

jovens e touros mais velhos é a capacidade do epidídimo de armazenar os espermatozoides (Brito, 2021). Quando maduro sexualmente,

Patologias espermáticas podem estar relacionadas com o desenvolvimento reprodutivo de touros (Barth et al., 2008). Gota citoplasmática proximal foi associada com imaturidade testicular, já as gotas citoplasmáticas distais são atribuídas à imaturidade do epidídimo, o que causa dificuldade na maturação espermática durante o trânsito no trato epididimário (Johnson et al., 1998; Felton-Taylor et al., 2020). Ambas as patologias de presença de gota citoplasmática podem ser relacionadas com a idade de touros, sendo que animais mais jovens apresentam maior quantidade desses defeitos quando comparados com animais mais velhos (Johnson et al., 1998; Felton-Taylor et al., 2020). Outra patologia espermática que pode ser relacionada com o estágio de desenvolvimento sexual é a cabeça isolada normal (Johnson et al., 1998), entretanto, esse defeito pode ser ocasionado, também, pela técnica utilizada no momento da preparação da lâmina para avaliação da morfologia espermática (Koziol, 2024).

2.2.2. Impactos do manejo nutricional na reprodução

O desenvolvimento sexual de touros depende de diferentes fatores tanto genético quanto ambientais. A nutrição representa papel fundamental no desempenho reprodutivo de touros, uma vez que o tempo exigido para a puberdade e maturidade sexual está intimamente ligado ao desenvolvimento e peso corporal (Brito et al., 2004b; Brito et al., 2012a). Em estudo com bezerros da raça Holandesa, English et al. (2018) compararam o efeito de diferentes fornecimentos de alimentos no desenvolvimento corporal e reprodutivo; os autores relataram que os grupos com maior disponibilidade de alimentos apresentaram maior peso corporal, testículos maiores, túbulos semníferos com maior diâmetro, maior quantidade de células de Sertoli e células espermatogênicas quando comparados com o grupo de dieta restrita.

Uma subnutrição para bezerros durante o período pré-púbere pode resultar em um desenvolvimento sexual mais tardio, essa nutrição pode estar relacionada com a categoria da mãe, uma vez que primíparas podem ainda estar em desenvolvimento corporal e destinar menor quantidade de energia na produção de leite (Brito, 2024). Em estudo avaliando o desenvolvimento sexual de touros nascidos de vacas

primíparas e multíparas, Bagu et al. (2009) observaram que a restrição de nutrientes dos filhos de vacas primíparas em relação com os de multíparas resultou em comprometimento do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, acarretando menor resposta do eixo na produção do hormônio luteinizante (LH) quando estimulado com a aplicação do hormônio liberador de gonadotropina (GnRH). Os autores relataram, também, que filhos de vacas multíparas tiveram crescimento testicular mais acelerado quando comparados com filhos de vacas primíparas. Além disso, a subnutrição materna no início da gestação resulta em consequências a longo prazo no desempenho pós-natal, nos perfis hormonais, em características da carcaça e da qualidade da carne dos descendentes machos de bovinos de corte.

A nutrição com baixa quantidade de nutrientes durante o período pré-púbere atrasa o aumento inicial de gonadotrofina, o que reduz a secreção de pulsos diários de LH; entretanto, a dieta de alta qualidade nutricional neste estágio acelera o aumento de gonadotróficos e estimula o aumento da secreção pulsátil de LH (Brito et al., 2007; Brito, 2024). A nutrição pode afetar concentrações de testosterona, sendo pelo aumento da quantidade de células de Leydig ou pelo aumento da atividade dessas células (Bollwein et al., 2017).

O cuidado de evitar dietas altamente energéticas após a desmama deve ser levado em consideração, uma vez que pode levar ao acúmulo excessivo de gordura no escroto, diminuindo a capacidade termorregulatória e elevando a temperatura testicular, isso ocasiona diminuição da produção espermática e baixa qualidade seminal (Brito et al., 2012b; Brito, 2024). Segundo Brito et al. (2012a), dietas equilibradas com o objetivo de GMD entre 1 e 1,6kg são ideais durante o desenvolvimento corporal e sexual de touros.

Em estudo com bezerros das raças Jersey e Holandesa, o maior fornecimento de alimentos (concentrado e leite) durante o desenvolvimento sexual de touros foi responsável por melhor quadro metabólico evidenciado por maiores concentrações do fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1), assim como maior potencial de síntese e secreção de LH quando comparada com animais que receberam dieta de menor qualidade (Byrne et al., 2017).

2.2.3. Seleção para características reprodutivas

Há ampla discussão sobre a implementação de características reprodutivas nos programas de melhoramento genético. Os parâmetros genéticos reprodutivos são de grande importância na produção de bovinos. Apesar da maioria das medidas reprodutivas apresentarem herdabilidade consideradas baixas, características conhecidas por influenciar a reprodução de touros podem ser herdáveis, como é o caso do perímetro escrotal (PE; Engelken, 2008). Até o momento, praticamente, apenas o PE é coletado e utilizado como fenótipo reprodutivo em avaliações genéticas de touros (Butler et al., 2020). Isso pois, o PE é uma análise de fácil mensuração e de alta aplicabilidade; essa mensuração pode ser utilizada como um indicador de produção espermática e preditor do estado puberal e de maturidade (Menon et al., 2011; Brito et al., 2012a), além de apresentar herdabilidade de 0,33 – 0,75, que é considerada de moderada a alta (Silva et al., 2011; Corbet et al., 2013; Oliveira et al., 2018; Silva Neto et al., 2020; Pagoto et al., 2023); além de ser positivamente associado com a produção espermática (Brito, 2021). Por isso, pode ser a característica reprodutiva de escolha como critério de seleção em alguns programas de melhoramento genético (Silva et al., 2011; Butler et al., 2020).

Avaliando a herdabilidade do PE em diferentes idades de duas raças (Tropical Composta e Brahman), Corbet et al. (2013) relataram que a avaliação do PE aos 12, 18 e 24 meses apresentaram intervalos de herdabilidades próximas dentro das raças (0,46 - 0,65; 0,43 - 0,75; e 0,44 - 0,75; respectivamente), apenas quando o PE foi mensurado aos 6 meses que a herdabilidade foi menor na raça Brahman. Apesar disso, é importante ressaltar que a interpretação da avaliação de PE deve levar em consideração critérios como a idade e a raça do touro, uma vez que são altamente variáveis entre elas (Menon et al., 2011).

Parâmetros de qualidade espermática em geral apresentam de baixa a moderada herdabilidade, pois possuem alta influência ambiental (Carvalho Filho et al., 2020). Entretanto, essas características possuem variabilidade genética e podem ser incluídas em programa de seleção (Carvalho et al., 2023); isso ocasionaria o aumento do valor genético indireto na taxa de concepção de touros (Uemoto et al., 2024). A falta de antagonismo genético entre as características seminais e características

produtivas, indica que a seleção para melhor qualidade espermática não acarretará prejuízos na produtividade dos programas de seleção (Corbet et al., 2013).

Diferentes estudos avaliaram a herdabilidade das características seminais, sendo que as variáveis de cinética espermática apresentam menores estimativas. Foram reportadas de baixa a moderada herdabilidade (0,11 - 0,24) da concentração espermática (Berry et al., 2019; Olsen et al., 2020; Ghoreishifar et al., 2023; Uemoto et al., 2024), sendo uma das principais características seminais, com importância em todas as fases do desenvolvimento sexual de touros. Já a motilidade espermática também apresenta alta influência ambiental, assim os estudos observaram de baixa a moderada herdabilidade (0,02 – 0,37) (Berry et al., 2019; Olsen et al., 2020; Carvalho Filho et al., 2020; Gebreyesus et al., 2021; Olasege et al., 2021; Carvalho et al., 2023; Pagoto et al., 2023; Uemoto et al., 2024).

A morfologia espermática é um dos fatores que mais influenciam na fertilidade e desenvolvimento embrionário/fetal na reprodução de bovinos (Walters et al., 2004; Saacke, 2008; Boe-Hansen et al., 2018). Estudos observaram baixa a moderada herdabilidade de defeitos maiores (0,017 - 0,49), menores (0,017 – 0,17) e totais (0,019 - 0,39) (Carvalho Filho et al., 2020; Carvalho et al., 2023; Pagoto et al., 2023). A porcentagem de espermatozoides normais foi relatada com herdabilidade de baixa a moderada (0,15 – 0,49) (Corbet et al., 2013; Carvalho Filho et al., 2020; Olasege et al., 2021; Facy et al., 2023; Tan et al., 2023). Já Facy et al. (2023), estudando touros jovens de raça composta adaptada ao clima tropical, relataram herdabilidade de gota proximal ($0,39 \pm 0,09$), Knobbed ($0,32 \pm 0,10$), edema de acrossoma ($0,12 \pm 0,08$) e vacúolos/teratóides ($0,16 \pm 0,08$). Características seminais apresentam variabilidade genética, isso permite ganhos genéticos consistentes quando inseridas em programa de seleção. Entretanto a interação entre os fatores genéticos e ambientais ainda representa um desafio na implementação de estratégias mais precisas. Sendo necessário, também, avaliar se há impacto negativo da seleção para características de produção sobre a reprodução de bovinos.

2.3. Métodos para Avaliação Reprodutiva

2.3.1. Biometria Testicular

Durante o desenvolvimento sexual, as alterações de biometrias testiculares são evidentes. Entre as características biométricas dos testículos podemos incluir a comprimento e largura. Essas variáveis são necessárias para o cálculo do volume total dos testículos (Bailey et al., 1998). Além disso, são características que, juntas, determinam o formato testicular e podem estar associadas com a adaptação a diferentes climas. Raças zebuínas, em geral, apresentam formato testicular mais alongado (Siqueira et al., 2012). Esse formato resulta em maior superfície de contato com o ambiente e maior distribuição dos vasos sanguíneos, esses mecanismos favorecem a troca de calor (Bailey et al., 1996).

Dentre as características de biometria testicular, o PE é obtido de forma mais fácil e é de rápida obtenção. Mesmo assim, representa uma maneira confiável para a mensuração do tamanho testicular, sendo altamente correlacionada com as demais características (Brito et al., 2004b; Lunstra et al., 1978; Silva et al., 2013). O volume testicular e PE de touros foram associados à produção espermática diária e com a qualidade seminal (Brito et al., 2002; Brito et al., 2004b), sendo considerados bons indicadores de puberdade, devido a facilidade de implementação em propriedades (Rawlings et al., 2008; Kastelic, 2014; Menegassi et al., 2019).

Logo antes da puberdade, o PE cresce rápido e substancialmente por um curto período. Após essa fase de rápido crescimento testicular, essa curva de desenvolvimento chega a um platô e terá aumento em velocidade reduzida (Brito, 2021). O PE ao atingir a puberdade é variável mesmo dentro das subespécies (*Bos indicus* e *Bos taurus*), sendo dependente da raça (Freneau et al., 2006; Brito et al., 2012a; Brito, 2021; Freneau et al., 2023). Entretanto, em média os animais taurinos apresentam PE de 29 cm no início da puberdade, enquanto touros zebuínos apresentam 26 cm (Brito, 2021). Já quando em maturidade sexualmente, é recomendado que touros *Bos indicus* e *Bos taurus* tenham PE a partir de 30 cm e 34 cm, respectivamente (CBRA, 2013; Chenoweth e Lorton, 2022).

2.3.2. Ultrassonografia Testicular e Doppler

A ultrassonografia é uma ferramenta importante na reprodução de bovinos. Avanços tecnológicos têm introduzido softwares especializados para análises pós-processamento, proporcionando quantificação objetiva das imagens por meio da atribuição de intensidades de pixel variando de 0 (preto) a 255 (branco) (Gábor et al., 1998; Brito et al., 2012b; Tomlinson et al., 2017). Essas inovações têm aumentado significativamente a precisão em diagnósticos e a padronização na interpretação de resultados.

Em touros saudáveis, o tecido testicular apresenta-se moderadamente ecogênico, com uma distribuição homogênea, refletindo sua funcionalidade normal (Kastelic e Brito, 2012). Durante a puberdade, no entanto, o padrão ecogênico sofre alterações significativas, caracterizadas por aumento na ecogenicidade e heterogeneidade, atribuídas à crescente densidade celular, ao aumento da produção espermática e diferenciação das células de Sertoli (Abdel-Razek e Ali, 2005; Brito et al., 2012b; Brito, 2021). Essas mudanças estruturais refletem a maturação dos testículos e podem ser monitoradas pela ultrassonografia.

Além da avaliação estrutural, a técnica permite identificar patologias testiculares como fibroses, cistos e tumores (Barth et al., 2008; Kastelic e Brito, 2012b). Em casos de alterações reprodutivas, a detecção precoce por ultrassonografia é fundamental para intervenções eficazes.

A utilização do modo Doppler fornece informações dinâmicas sobre o fluxo sanguíneo em tecidos específicos, como a região escrotal. Essa abordagem tem sido amplamente utilizada para avaliar a vascularização testicular e sua relação com a função reprodutiva (Gloria et al., 2018). A técnica Doppler é baseada na análise de parâmetros hemodinâmicos, como velocidade do pico sistólico (VPS), velocidade diastólica final (VDF), índice de resistividade (IR) e índice de pulsatilidade (IP). Os cálculos de IR e IP seguem as equações descritas por Middleton et al. (1989) e Wood et al. (2010): $IR = (VPS - VDF) / VPS$; $IP = (VPS - VDF) / \text{Velocidade Média}$.

Esses índices são amplamente utilizados para caracterizar a eficiência do fluxo sanguíneo em diversas espécies animais (Pinggera et al., 2008; Ginther, 2014; Camela et al., 2017; 2019; Trautwein et al., 2019, 2024). Em touros, o uso do Doppler

tem permitido análises detalhadas da vascularização do cordão espermático, associando esses parâmetros à qualidade seminal e à capacidade reprodutiva (Gloria et al., 2018). A tecnologia também tem possibilitado a identificação de diferenças significativas nos padrões de vascularização testicular entre raças zebuínas e taurinas (Barca Júnior et al., 2018; Rodrigues et al., 2020).

Parâmetros como VDF e VPS, embora úteis, são sensíveis ao ângulo de insonação do transdutor em relação ao vaso analisado, o que pode limitar sua precisão na avaliação de artérias tortuosas, como a artéria testicular (Strina et al., 2016; Ortiz-Rodriguez et al., 2017; Gloria et al., 2018). Em contrapartida, os índices IR e IP são independentes desse ângulo, proporcionando uma avaliação mais confiável. Valores reduzidos de IR e IP são indicativos de menor resistência vascular e maior perfusão testicular, condições associadas a melhor função reprodutiva (Pinggera et al., 2008; Strina et al., 2016; Gloria et al., 2018).

Além de bovinos, a ultrassonografia Doppler tem sido amplamente utilizada em outras espécies. Em bodes, menores valores de IR foram associados a maiores volumes testiculares e níveis elevados de testosterona, indicando melhor suprimento sanguíneo ao tecido testicular (Strina et al., 2016). Entretanto, em estudos com touros das raças Angus e Hereford, foi observado que condições ambientais, como temperatura e umidade, influenciam significativamente os parâmetros vasculares, uma vez que em climas mais frios, observou-se aumento do IP devido à vasoconstrição da artéria suprategicular, sendo considerado um mecanismo adaptativo ao estresse térmico (Fávaro et al., 2020; Llamas-Luceño et al., 2020).

Montes-Garrido et al. (2022) avaliaram diferentes frequências de ejaculação em carneiros e observaram que animais submetidos a uma maior frequência ejaculatória apresentaram maiores intensidades de pixels, bem como valores superiores de IP e IR, em comparação àqueles em abstinência sexual, contraditoriamente, o fluxo sanguíneo também aumentou; esses autores sugeriram que esse efeito pode estar associado ao estresse resultante da intensa frequência de coleta seminal. Por sua vez, Fernandes et al. (2022), ao avaliarem touros Nelore com diferentes níveis de fertilidade, observaram maiores valores de IP e IR em animais de alta fertilidade. Os autores justificam os resultados como um mecanismo de termorregulação da raça Nelore, uma vez que o trabalho foi conduzido em época de altas temperaturas e com

sistema de monta natural. Com altos IP e IR, a velocidade do fluxo sanguíneo é diminuída, isso poderia possibilitar maior troca de calor do sangue arterial por contracorrente.

2.3.3. Avaliação da cinética espermática pelo sistema CASA (Computer-Assisted Sperm Analysis)

A fertilidade é uma característica complexa que envolvem funções fisiológicas e celulares, que precisam estar alinhadas para atingir sucesso. Para prever a fertilidade em machos não há uma única técnica que possa garantir o potencial reprodutivo, e sim uma combinação de avaliações físicas e laboratoriais (Amann e Hammerstedt, 1993; Fernandes et al., 2022).

A análise do sêmen fornece informações importantes sobre a espermatogênese, desenvolvimento sexual e possíveis patologias no sistema reprodutor do macho (Costa e Silva et al., 2015) As principais avaliações que devem ser feitas do ejaculado são: concentração, motilidade e morfologia das células espermáticas (Boe-Hansen e Satake, 2019), entretanto podem ser subjetivas e variar entre técnicos (Brito, 2016).

Para obter dados mais objetivos e avaliar a qualidade do ejaculado, é utilizado o sistema de análise computadorizada do movimento espermático (CASA), composto por um microscópio, uma câmera de vídeo e um hardware e software específico (Amann e Katz, 2004). O sistema CASA inicialmente era utilizado apenas para espermatozoides humanos em clínicas de fertilidade (Blanchard et al., 2011). Atualmente pode ser programado de acordo com a espécie que está sendo analisada, utilizado para pesquisas e centrais de reprodução animal (Contri et al., 2010; Yeste et al., 2018).

Há fatores que podem influenciar os valores obtidos após a avaliação espermática pelo CASA, por exemplo, câmara de amostra, configuração do instrumento, tipo de amostra (sêmen *in natura*, refrigerado, criopreservado), diluidor, e concentração espermática (Amann e Waberski, 2014). Para a configuração do software é necessário manter um padrão para todas as análises, os limites são configurados de acordo com a espécie animal, as variáveis que devem ser

padronizadas são motilidade, motilidade progressiva, porcentagem de espermatozoides rápido e lentos (Contri et al., 2010; Kraemer et al., 1998).

As medidas de motilidade podem ser afetadas devido à natureza da amostra e o meio diluidor utilizado. Nesse contexto, amostras diluídas em meios à base de gema de ovo ou outras partículas grandes podem afetar a capacidade do software em identificar as células, superestimando o número de espermatozoides, assim como a diluição excessiva pode gerar resultados incorretos e diminuir a motilidade (Contri et al., 2010). Outro fator que pode afetar é o tempo de pré-incubação, para avaliar a motilidade é necessário que tenha uma ativação prévia em temperatura de acordo com a espécie (Martín-Hidalgo et al., 2013; Vicente-Carrillo et al., 2016).

Os sistemas CASA fornecem parâmetros de avaliação seminal em porcentagem dos espermatozoides móveis totais e progressivos, e média dos parâmetros individuais que fornecem uma visão geral das características de movimento das células espermáticas (Mortimer et al., 2015). Os parâmetros cinéticos mais utilizados fornecidos pelo CASA são: VAP (velocidade média do trajeto), VSL (velocidade média em linha reta), VCL (velocidade média curvilínea), LIN (linearidade, relação entre VSL/VCL), STR (retidão, relação entre VSL/VAP), WOB (oscilação, razão entre VAP/VCL), ALH (amplitude lateral da cabeça), BCF (frequência do batimento cruzado flagelar) (Yeste et al., 2018).

Devido a diferenças sutis que o sistema CASA é capaz de identificar, pode ser utilizado para avaliar as mudanças nos parâmetros cinéticos dos espermatozoides antes e após a criopreservação e os efeitos do diluidor (Amann e Katz, 2004), sabe-se que, principalmente, os parâmetros VCL, VAP, ALH, motilidade e concentração, podem ser alterados com a manipulação do sêmen, e estão altamente correlacionados com o teste de penetração do espermatozoide (Fetterolf e Rogers, 1990).

As avaliações cinéticas dos espermatozoides podem ser utilizadas para prever o potencial de fertilização *in vitro*, por exemplo, estudos demonstraram que os parâmetros VCL, VSL, LIN e ALH estão correlacionados com o sucesso da fertilização (Hirano et al., 2001; Shibahara et al., 2004; Fernandes et al., 2022). LIU et al. (1991) relataram que quando VAP apresenta resultado maior que 10 $\mu\text{m/s}$, foi correlacionada positivamente com o sucesso na taxa de fertilidade de embriões produzidos *in vitro*

(PIVE). Além da PIVE, as avaliações citadas são úteis para exibir o estado de hiperatividade do espermatozoide, que é um importante processo da capacitação espermática e é adquirido para alcançar e fertilizar o ócito (Amann et al., 2000).

2.3.4. Punção Aspirativa e Histologia Testicular

A avaliação histológica testicular é uma ferramenta importante para estudos avaliando alterações testiculares ou espermatogênicas. Entretanto, a avaliação histológica só é possível após a castração ou abate do animal, isso dificulta o estudo seriado e as avaliações durante o processo. Por isso, técnicas como punção aspirativa são estudadas e utilizadas em pesquisas com diversas espécies, como homens (Arıdoğan et al., 2003; Garolla et al., 2014), garanhões (Leme e Papa, 2000; 2010; Papa e Leme, 2002), cães (Souza et al., 2004), gatos (Gouletsou et al., 2012; Leme et al., 2018) e touros (Chapwanya et al., 2008; Crespilho et al., 2019; Rajak et al., 2013). Nas biópsias aspirativas, o tamanho da agulha interfere na quantidade de células espermatogênicas recuperadas, entretanto, também aumenta a lesão no local em que a agulha é inserida (Carpi et al., 2005; Crespilho et al., 2019). Crespilho et al. (2019) relataram, ainda, não haver prejuízos generalizados no parênquima testicular ao utilizar a técnica de punção aspirativa por agulha fina (PAAF), sendo considerado um método de escolha em relação a biópsia testicular (Arıdoğan et al., 2003).

Durante a leitura das lâminas produzidas pela PAAF, é possível identificar espermatogônias, espermátocitos, espermátides, espermátides alongadas, espermatozoides e células de Sertoli (Leme e Papa, 2010). Sendo que em reprodutores saudáveis e com espermatogênese adequada, é comum encontrar maior quantidade de espermátides alongadas, seguida por espermatozoides, espermátides e células de Sertoli (Leme e Papa, 2000; 2010). A maior quantidade de espermátides recuperadas pela PAAF, refletem que a espermatogênese está acontecendo adequadamente (Garolla et al., 2014).

Menor quantidade de células de Sertoli foram encontradas em garanhões durante a estação de monta, quando comparado com garanhões fora da estação de monta (Leme et al., 2012). Leme et al. (2012) sugerem que esses

resultados demonstram a capacidade das células de Sertoli em manter células espermatogênicas durante a estação de monta.

No desenvolvimento sexual, ocorre mudanças no tamanho e tipos de células presentes na parede do túbulo seminífero, essas alterações levam ao aumento do diâmetro dos túbulos (Michalek et al., 2024). Avaliando o desenvolvimento dos túbulos seminíferos de bezerras, Evans et al. (1996) observaram aumento do diâmetro do lúmen e diâmetro total dos túbulos seminíferos entre os 6 e 9 meses de idade, após um aumento de gonadotrofina. Essa mudança coincidiu com o aparecimento e aumento da quantidade de espermátides a partir dos 5 meses de idade, bem como o aparecimento de espermátides alongadas a partir dos 7,5 meses de idade, e presença de células espermáticas maduras a partir dos 10 meses. Esses autores, também observaram constante diminuição da porcentagem de células germinativas. Isso demonstra o gradativo desenvolvimento e diferenciação celular na parede dos túbulos seminíferos.

REFERÊNCIAS

Abdel-Razek AK, Ali A (2005) Developmental changes of bull (*Bos taurus*) genitalia as evaluated by caliper and ultrasonography. **Reproduction in Domestic Animals**, 40:23–27., doi:10.1111/j.1439-0531.2004.00549.x.

Abduch NG, Reolon HG, Ligori VA, Silva RM de O, Veríssimo CJ, Paz CCP, Stafuzza NB (2024) Resistance to natural tick infestation varies with age and coat and hair traits in a tropically adapted beef cattle breed. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, 50:, doi:10.1016/j.vprsr.2024.101017.

Ajitkumar G Menon, Herman W Barkema, Randy Wilde, John P Kastelic, Jacob C Thundathil (2011) Associations between sperm abnormalities, breed, age, and scrotal circumference in beef bulls. **The Canadian Journal of Veterinary Research**, 75:241–247.

Amann RP (1983) Endocrine Changes Associated with Onset of Spermatogenesis in Holstein Bulls. **Journal of Dairy Science**, 66:2606–2622., doi:10.3168/jds.S0022-0302(83)82135-3.

Amann RP, Hammerstedt RH (1993) In Vitro Evaluation of Sperm Quality: An Opinion. **Journal of Andrology**, 14:397–406., doi:10.1002/j.1939-4640.1993.tb03247.x.

Amann RP, Seidel GE, Mortimer RG (2000) Fertilizing potential in vitro of semen from young beef bulls containing a high or low percentage of sperm with a proximal droplet. **Theriogenology**, 54:1499–1515., doi:10.1016/S0093-691X(00)00470-2.

Amann Rupert P, Katz DF (2004) Andrology Lab Corner*: Reflections on CASA After 25 Years. **Journal of Andrology**, 25:317–325., doi:10.1002/j.1939-4640.2004.tb02793.x.

Amann Rupert P, Waberski D (2014) Computer-assisted sperm analysis (CASA): Capabilities and potential developments. **Theriogenology**, 81:5-17.e3., doi:10.1016/j.theriogenology.2013.09.004.

Aponte PM, De Rooij DG, Bastidas P (2005) Testicular development in Brahman bulls. **Theriogenology**, 64:1440–1455., doi:10.1016/j.theriogenology.2005.03.016.

Aravindakshan JP, Honaramooz A, Bartlewski PM, Beard AP, Pierson RA, Rawlings NC (2000) Pattern of gonadotropin secretion and ultrasonographic evaluation of developmental changes in the testis of early and late maturing bull calves. **Theriogenology**, 54:339–354., doi:10.1016/S0093-691X(00)00353-8.

Arıdoğan İA, Bayazıt Y, Yaman M, Ersöz C, Doran Ş (2003) Comparison of fine-needle aspiration and open biopsy of testis in sperm retrieval and histopathologic diagnosis. **Andrologia**, 35:121–125., doi:10.1046/j.1439-0272.2003.00547.x.

Associação Brasileira de Criadores de Caracu (2025, janeiro 5) ABC Caracu. <https://www.abccaracu.com.br/>.

Bagu E, Davies K, Epp T, Arteaga A, Barrett D, Duggavathi R, Barth A, Rawlings N (2009) The Effect of Parity of the Dam on Sexual Maturation, Serum Concentrations of Metabolic Hormones and the Response to Luteinizing Hormone Releasing Hormone in Bull Calves. **Reproduction in Domestic Animals**, 45:803–810., doi:10.1111/j.1439-0531.2009.01356.x.

Bagu, E. T., Madgwick, S., Duggavathi, R., Bartlewski, P. M., Barrett, D. M. W., Huchkowsky, S., Cook, S. J., & Rawlings, N. C. (2004). Effects of treatment with LH or FSH from 4 to 8 weeks of age on the attainment of puberty in bull calves. **Theriogenology**, 62(5), 861–873. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2003.12.021>

Bailey TL, Hudson RS, Powe TA, Riddell MG, Wolfe DF, Carson RL (1998) Caliper and ultrasonographic measurements of bovine testicles and a mathematical formula for determining testicular volume and weight in vivo. **Theriogenology**, 49:581–594., doi:10.1016/S0093-691X(98)00009-0.

Bailey TL, Monke D, Hudson RS, Wolfe DF, Carson RL, Riddell MG (1996) Testicular shape and its relationship to sperm production in mature Holstein bulls. **Theriogenology**, 46:881–887., doi:10.1016/S0093-691X(96)00245-2.

Barca Júnior FA, Koetz Júnior C, Fávaro P da C, Pereira GR, Morotti F, Menegassi SRO, Barcellos JOJ, Seneda MM (2018) Effect of breed on testicular blood flow dynamics in bulls. **Theriogenology**, 118:16–21.

Barth A D (2018) Review: The use of bull breeding soundness evaluation to identify subfertile and infertile bulls. **Animal**, 12:s158–s164., doi:10.1017/S1751731118000538.

Barth Albert D, Alisio L, Avilés M, Arteaga AA, Campbell JR, Hendrick SH (2008) Fibrotic lesions in the testis of bulls and relationship to semen quality. **Animal Reproduction Science**, 106:274–288., doi:10.1016/j.anireprosci.2007.05.002.

Berry DP, Eivers B, Dunne G, McParland S (2019) Genetics of bull semen characteristics in a multi-breed cattle population. **Theriogenology**, 123:202–208., doi:10.1016/j.theriogenology.2018.10.006.

Blanchard M, Haguenoer K, Apert A, Poret H, Barthélémy C, Royère D, Guérif F (2011) Sperm morphology assessment using David's classification: Time to switch to strict criteria? Prospective comparative analysis in a selected IVF population. **International Journal of Andrology**, 34:145–152., doi:10.1111/j.1365-2605.2010.01066.x.

Boe-Hansen G B, Fortes MRS, Satake N (2018) Morphological defects, sperm DNA integrity, and protamination of bovine spermatozoa. **Andrology**, 6:627–633., doi:10.1111/andr.12486.

Boe-Hansen Gry Brandt, Satake N (2019) An update on boar semen assessments by flow cytometry and CASA. **Theriogenology**, 137:93–103., doi:10.1016/j.theriogenology.2019.05.043.

Bollwein H, Janett F, Kaske M (2017) Effects of nutrition on sexual development of bulls. **Animal Reproduction**, 14:607–613., doi:10.21451/1984-3143-AR1004.

Bonilha SFM, Tedeschi LO, Packer IU, Razook AG, Alleoni GF, Nardon RF, Resende FD (2008) Evaluation of carcass characteristics of *Bos indicus* and tropically adapted *Bos taurus* breeds selected for postweaning weight. **Journal of Animal Science**, 86:1770–1780., doi:10.2527/jas.2007-0507.

Bourgon SL, Diel de Amorim M, Miller SP, Montanholi YR (2017) Associations of blood parameters with age, feed efficiency and sampling routine in young beef bulls. **Livestock Science**, 195:27–37., doi:10.1016/j.livsci.2016.11.003.

Brito LFC (2016) A multilaboratory study on the variability of bovine semen analysis. **Theriogenology**, 85:254–266., doi:10.1016/j.theriogenology.2015.05.027.

Brito LFC (2021) Sexual Development and Puberty in Bulls. **Bovine Reproduction** (p. 58–78). wiley.

Brito LFC (2024) Nutrition and Sexual Development in Bulls. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, 40:1–10., doi:10.1016/j.cvfa.2023.08.002.

Brito LFC, Barth AD, Rawlings NC, Wilde RE, Crews DH, Mir PS, Kastelic JP (2007) Circulating metabolic hormones during the peripubertal period and their association with testicular development in bulls. **Reproduction in Domestic Animals**, 42:502–508., doi:10.1111/j.1439-0531.2006.00813.x.

Brito LFC, Barth AD, Wilde RE, Kastelic JP (2012) Testicular vascular cone development and its association with scrotal temperature, semen quality, and sperm production in beef bulls. **Animal Reproduction Science**, 134:135–140., doi:10.1016/j.anireprosci.2012.08.025.

Brito LFC, Barth AD, Wilde RE, Kastelic JP (2012a) Effect of growth rate from 6 to 16 months of age on sexual development and reproductive function in beef bulls. **Theriogenology**, 77:1398–1405., doi:10.1016/j.theriogenology.2011.11.003.

Brito LFC, Barth AD, Wilde RE, Kastelic JP (2012b) Testicular ultrasonogram pixel intensity during sexual development and its relationship with semen quality, sperm production, and quantitative testicular histology in beef bulls. **Theriogenology**, 78:69–76., doi:10.1016/j.theriogenology.2012.01.022.

Brito LFC, Silva AEDF, Barbosa RT, Kastelic JP (2004a) Testicular thermoregulation in *Bos indicus*, crossbred and *Bos taurus* bulls: relationship with scrotal, testicular vascular cone and testicular morphology, and effects on semen quality and sperm production. **Theriogenology**, 61:511–528., doi:10.1016/S0093-691X(03)00231-0.

Brito LFC, Silva AEDF, Rodrigues LH, Vieira F V, Deragon LAG, Kastelic JP (2002) Effect of age and genetic group on characteristics of the scrotum, testes and testicular vascular cones, and on sperm production and semen quality in AI bulls in Brazil. **Theriogenology**, 58:1175–1186., doi:10.1016/S0093-691X(02)00921-4.

Brito LFC, Silva AEDF, Unanian MM, Dode MAN, Barbosa RT, Kastelic JP (2004b) Sexual development in early- and late-maturing *Bos indicus* and *Bos indicus* x *Bos taurus* crossbred bulls in Brazil. **Theriogenology**, 62:1198–1217., doi:10.1016/j.theriogenology.2004.01.006.

Burrow HM (2012) Importance of adaptation and genotype × environment interactions in tropical beef breeding systems. **Animal** (Vol. 6, p. 729–740).

Butler ML, Bormann JM, Weaber RL, Grieger DM, Rolf MM (2020) Selection for bull fertility: A review. **Translational Animal Science**. Oxford University Press.

Byrne CJ, Fair S, English AM, Urh C, Sauerwein H, Crowe MA, Lonergan P, Kenny DA (2017) Effect of breed, plane of nutrition and age on growth, scrotal development, metabolite concentrations and on systemic gonadotropin and testosterone concentrations following a GnRH challenge in young dairy bulls. **Theriogenology**, 96:58–68., doi:10.1016/j.theriogenology.2017.04.002.

Camela ESC, Nociti RP, Santos VJC, Macente BI, Maciel GS, Feliciano MAR, Vicente WRR, Gill I, Bartlewski PM, Oliveira MEF (2017) Ultrasonographic characteristics of accessory sex glands and spectral Doppler indices of the internal iliac arteries in peri- and post-pubertal Dorper rams raised in a subtropical climate. **Animal Reproduction Science**, 184:29–35., doi:10.1016/j.anireprosci.2017.06.010.

Camela ESC, Nociti RP, Santos VJC, Macente BI, Murawski M, Vicente WRR, Bartlewski PM, Oliveira MEF (2019) Changes in testicular size, echotexture, and arterial blood flow associated with the attainment of puberty in Dorper rams raised in a subtropical climate. **Reproduction in Domestic Animals**, 54:131–137., doi:10.1111/rda.13213.

Carpi A, Menchini Fabris FG, Palego P, Di Coscio G, Romani R, Nardini V, Rossi G (2005) Fine-needle and large-needle percutaneous aspiration biopsy of testicles in men with nonobstructive azoospermia: Safety and diagnostic performance. **Fertility and Sterility**, 83:1029–1033., doi:10.1016/j.fertnstert.2004.09.027.

Carvalho FE, Ferraz JBS, Pedrosa VB, Matos EC, Eler JP, Silva MR, Guimarães JD, Bussiman FO, Silva BCA, Caçado FA, Mulim HA, Espigolan R, Brito LF (2023) Genetic parameters for various semen production and quality traits and indicators of male and female reproductive performance in Nellore cattle. **BMC Genomics**, 24:, doi:10.1186/s12864-023-09216-5.

Carvalho Filho I, Marques DBD, de Campos CF, Guimarães JD, Guimarães SEF, Lopes PS, Silva FF e, Veroneze R (2020) Genetic parameters for fertility traits in Nellore bulls. **Reproduction in Domestic Animals**, 55:38–43., doi:10.1111/rda.13578.

CBRA (2013) **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. (3ª ed). Belo Horizonte.

Chapwanya A, Callanan J, Larkin H, Keenan L, Vaughan L (2008) Breeding soundness evaluation of bulls by semen analysis, testicular fine needle aspiration cytology and trans-scrotal ultrasonography. **Irish Veterinary Journal**, 61:315–318., doi:10.1186/2046-0481-61-5-315.

Chenoweth PJ, Lorton SP (Eds) (2022) **Manual of Animal Andrology**. CABI, GB.

Contri A, Valorz C, Faustini M, Wegher L, Carluccio A (2010) Effect of semen preparation on casa motility results in cryopreserved bull spermatozoa. **Theriogenology**, 74:424–435., doi:10.1016/j.theriogenology.2010.02.025.

Corbet NJ, Burns BM, Johnston DJ, Wolcott ML, Corbet DH, Venus BK, Li Y, McGowan MR, Holroyd RG (2013) Male traits and herd reproductive capability in tropical beef cattle. 2. Genetic parameters of bull traits. **Animal Production Science**, 53:101–113., doi:10.1071/AN12163.

Costa e Silva EV, Costa Filho LCC, de Souza CC, de Oliveira CC, Queiroz VLD, Zúccari CESNeto (2015) Seleção de touros para reprodução a campo: novas perspectivas. **Rev. Bras. Reprod. Anim. Belo Horizonte**, 39:22–31.

Crespilho AM, Ferreira CS, Bastos YHGB, Guasti PN, Nascimento JC, de Oliveira Pimenta Guimarães K, Agopian RG, Gomes GM, da Cunha Peixoto K (2019) Testicular needle aspiration: Is it a safe method for breeding soundness evaluation in bulls? **Animal Reproduction**, 16:880–886., doi:10.21451/1984-3143-AR2019-0007.

Curtis SK, Amann RP (1981) Testicular Development and Establishment of Spermatogenesis in Holstein Bulls. **Journal of Animal Science**, 53:1645–1657., doi:10.2527/jas1982.5361645x.

Dym M, Fawcett DW (1970) The Blood-Testis Barrier in the Rat and the Physiological Compartmentation of the Seminiferous Epithelium1. **Biology of Reproduction**, 3:308–326., doi:10.1093/biolreprod/3.3.308.

Engelken TJ (2008) The development of beef breeding bulls. **Theriogenology**, 70:573–575., doi:10.1016/j.theriogenology.2008.05.038.

English, A.-M., Kenny, D. A., Byrne, C. J., Sauerwein, H., Urh, C., Crowe, M. A., Staub, C., Waters, S. M., & Fair, S. (2018). Role of early life nutrition on the hypothalamic-pituitary-testicular axis of the bull. **Reproduction**, 156(4), 283–297. <https://doi.org/10.1530/REP-17-0671>

Evans ACO, Pierson RA, Garcia A, McDougall LM, Hrudka F, Rawlings NC (1996) Changes in circulating hormone concentrations, testes histology and testes ultrasonography during sexual maturation in beef bulls. **Theriogenology**, 46:345–357., doi:10.1016/0093-691X(96)00190-2.

Facy ML, Hebart ML, Oakey H, McEwin RA, Pitchford WS (2023) Genetic relationships among yearling fertility, body composition and weight traits in tropically adapted composite cattle. **Animal Production Science**, 63:983–995., doi:10.1071/an22453.

Faria CU de, Andrade WBF de, Pereira C de F, Silva RP da, Lôbo RB (2015) Análise bayesiana para características de carcaça avaliadas por ultrassonografia de bovinos da raça Nelore Mocho, criados em bioma Cerrado. **Ciência Rural**, 45:317–322., doi:10.1590/0103-8478cr20140331.

Fávaro P da C, Pereira GR, Barca FA, Adona PR, Franco EMV, Dias I da S, Seneda MM, Koetz Junior C (2020) Hemodynamic evaluation of the suprastesticular artery in bulls. **Livestock Science**, 241:, doi:10.1016/j.livsci.2020.104210.

Felton-Taylor J, Prosser KA, Hernandez-Medrano JH, Gentili S, Copping KJ, Macrossan PE, Perry VEA (2020) Effect of breed, age, season and region on sperm morphology in 11,387 bulls submitted to breeding soundness evaluation in Australia. **Theriogenology**, 142:1–7., doi:10.1016/j.theriogenology.2019.09.001.

Fernandes LG, Borges MSA, de Oliveira Silva M, Rodrigues NN, Vicentini RR, Crespilho AM, Mercadante MEZ, Monteiro FM (2022) Use of auxiliary techniques for assessing the reproductive capacity of natural service Nellore bulls. **Animal Reproduction Science**, 247:, doi:10.1016/j.anireprosci.2022.107090.

Fetterolf PM, Rogers BJ (1990) Prediction of human sperm penetrating ability using computerized motion parameters. **Molecular Reproduction and Development**, 27:326–331., doi:10.1002/mrd.1080270406.

Freneau G E, Filho VRV, Marques AP, Maria WS (2006) Puberdade em touros Nellore criados em pasto no Brasil: características corporais, testiculares e seminais e de índice de capacidade andrológica por pontos [Puberty in Nellore bulls raised at pasture in Brazil: body, testicular and seminal characteristics and breeding soundness evaluation]. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v, 58:1107–1115.

Freneau Gustavo E, Guimarães JD, Vale Filho VR (2023) Desenvolvimento sexual em touros taurinos, índicos e mestiços F1 no Brasil Central. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, 31:171–186., doi:10.53588/alpa.310204.

Gábor G, Sasser RG, Kastelic JP, Mézes M, Falkay G, Bozó S, Völgyi Csik J, Bárány I, Hidas A, Szász F, Boros G (1998) Computer analysis of video and ultrasonographic images for evaluation of bull testes. **Theriogenology**, 50:223–228., doi:10.1016/S0093-691X(98)00129-0.

Garolla A, Selice R, Engl B, Bertoldo A, Menegazzo M, Finos L, Lenzi A, Foresta C (2014) Spermatid count as a predictor of response to FSH therapy. **Reproductive BioMedicine Online**, 29:102–112., doi:10.1016/j.rbmo.2014.02.014.

Gebreyesus G, Lund MS, Kupisiewicz K, Su G (2021) Genetic parameters of semen quality traits and genetic correlations with service sire nonreturn rate in Nordic Holstein bulls. **Journal of Dairy Science**, 104:10010–10019., doi:10.3168/jds.2021-20403.

Ghoreishifar M, Vahedi SM, Salek Ardestani S, Khansefid M, Pryce JE (2023) Genome-wide assessment and mapping of inbreeding depression identifies candidate genes associated with semen traits in Holstein bulls. **BMC Genomics**, 24:, doi:10.1186/s12864-023-09298-1.

Ginther OJ (2014) How ultrasound technologies have expanded and revolutionized research in reproduction in large animals. **Theriogenology**, 81:112–125., doi:10.1016/j.theriogenology.2013.09.007.

Gloria A, Carluccio A, Wegher L, Robbe D, Valorz C, Contri A (2018) Pulse wave Doppler ultrasound of testicular arteries and their relationship with semen characteristics in healthy bulls. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, 9:, doi:10.1186/s40104-017-0229-6.

Gouletsou PG, Galatos AD, Sideri AI, Kostoulas P (2012) Impact of fine needle aspiration (FNA) and of the number of punctures on the feline testis: Clinical, gross anatomy and histological assessment. **Theriogenology**, 78:172–181., doi:10.1016/j.theriogenology.2012.01.034.

Hay EH, Roberts A (2018) Genotype × prenatal and post-weaning nutritional environment interaction in a composite beef cattle breed using reaction norms and a multi-trait model. **Journal of Animal Science**, 96:444–453., doi:10.1093/jas/skx057.

Hirano Y, Shibahara H, Obara H, Suzuki T, Takamizawa S, Yamaguchi C, Tsunoda H, Sato I (2001) *ANDROLOGY Relationships Between Sperm Motility Characteristics Assessed by the Computer-Aided Sperm Analysis (CASA) and Fertilization Rates In Vitro*. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics** (Vol. 18).

Johnson KR, Dewey CE, Bobo JK, Kelling CL, Lunstra DD (1998) Prevalence of morphologic defects in spermatozoa from beef bulls. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 213:1468–1471., doi:10.2460/javma.1998.213.10.1468.

Kastelic J P, Brito LFC (2012) Ultrasonography for Monitoring Reproductive Function in the Bull. **Reproduction in Domestic Animals**, 47:45–51., doi:10.1111/j.1439-0531.2012.02042.x.

Kastelic John P (2014, janeiro 1) Understanding and evaluating bovine testes. **Theriogenology**.

Koziol JH (2024) Field Morphology and Interpretation. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, 40:29–40., doi:10.1016/j.cvfa.2023.06.001.

Kraemer M, Fillion C, Martin-Pont B, Auger J (1998) *Factors influencing human sperm kinematic measurements by the Celltrak computer-assisted sperm analysis system*. **Human Reproduction** (Vol. 13).

Leme DP, Papa FO (2000) Cytological identification and quantification of testicular cell types using fine needle aspiration in horses. **Equine Veterinary Journal**, 32:444–446., doi:10.2746/042516400777591156.

Leme DP, Papa FO (2010) How to Perform and Interpret Testicular Fine Needle Aspiration in Stallions. **Journal of Equine Veterinary Science**, 30:590–596., doi:10.1016/j.jevs.2010.09.003.

Leme DP, Papa FO, Roser JF (2012) Reproductive characteristics of stallions during the breeding and non-breeding season in a tropical region. **Tropical Animal Health and Production**, 44:1703–1707., doi:10.1007/s11250-012-0127-z.

Leme DP, Visacre E, Castro VB, Lopes MD (2018) Testicular cytology by fine needle aspiration in domestic cats. **Theriogenology**, 106:46–52., doi:10.1016/j.theriogenology.2017.10.012.

Lima SBGNP, Stafuzza NB, Pires B V, Bonilha SFM, Cyrillo JNSG, Negrão JA, Paz CCP (2020) Effect of high temperature on physiological parameters of Nelore (*Bos taurus indicus*) and Caracu (*Bos taurus taurus*) cattle breeds. **Tropical Animal Health and Production**, 52:2233–2241., doi:10.1007/s11250-020-02249-y.

Liu DY, Clarke GN, Baker HWG (1991) Relationship Between Sperm Motility Assessed with the Hamilton-Thorn Motility Analyzer and Fertilization Rates In Vitro. **Journal of Andrology**, 12:231–239., doi:10.1002/j.1939-4640.1991.tb00258.x.

Llamas-Luceño N, Hostens M, Mullaart E, Broekhuijse M, Lonergan P, Van Soom A (2020) High temperature-humidity index compromises sperm quality and fertility of Holstein bulls in temperate climates. **Journal of Dairy Science**, 103:9502–9514., doi:10.3168/jds.2019-18089.

Lunstra DD, Ford JJ, Echternkamp SE (1978) Puberty in beef bulls: hormone concentrations, growth, testicular development, sperm production and sexual aggressiveness in bulls of different breeds. **Journal of animal science**, 46:1054–1062., doi:10.2527/jas1978.4641054x.

Martín-Hidalgo D, Barón FJ, Robina A, Bragado MJ, Llera AH de, García-Marín LJ, Gil MC (2013) Inter- and intra-breed comparative study of sperm motility and viability in Iberian and Duroc boar semen during long-term storage in MR-A and XCell extenders. **Animal Reproduction Science**, 139:109–114., doi:10.1016/j.anireprosci.2013.04.001.

McGowan, M., Holland, M. K., & Boe-Hansen, G. (2018). Review: Ontology and endocrinology of the reproductive system of bulls from fetus to maturity. **Animal**, 12(s1), s19–s26. <https://doi.org/10.1017/S1751731118000460>

McManus C, Prescott E, Paludo GR, Bianchini E, Louvandini H, Mariante AS (2009) Heat tolerance in naturalized Brazilian cattle breeds. **Livestock Science**, 120:256–264., doi:10.1016/j.livsci.2008.07.014.

Menegassi SRO, Pereira GR, McManus C, Roso VM, Bremm C, Koetz C, Lopes JF, Barcellos JOJ (2019) Evaluation and prediction of scrotal circumference in beef bulls. **Theriogenology**, 140:25–32., doi:10.1016/j.theriogenology.2019.08.008.

Michalek K, Grabowska M, Oberska P, Gączarzewicz D, Syczewski A, Tripon SC, Barbu-Tudoran L, Suciú M (2024) Ultrastructure of the Bovine Testis in Cattle (*Bos taurus*): New View. **Animals**, 14:1777., doi:10.3390/ani14121777.

Middleton WD, Thorne DA, Melson GL (1989) Color Doppler ultrasound of the normal testis. **American Journal of Roentgenology**, 152:293–297., doi:10.2214/ajr.152.2.293.

Miyamoto, A., Umezu, M., Ishii, S., Furusawa, T., Masaki, J., Hasegawa, Y., & Ohta, M. (1989). Serum inhibin, FSH, LH and testosterone levels and testicular inhibin content in beef bulls from birth to puberty. **Animal Reproduction Science**, 20(3), 165–178. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(89\)90082-1](https://doi.org/10.1016/0378-4320(89)90082-1)

Montes-Garrido R, Riesco MF, Anel-Lopez L, Neila-Montero M, Palacin-Martinez C, Boixo JC, de Paz P, Ortega-Ferrusola C, Hassan MAA, Anel L, Alvarez M (2022) Application of ultrasound technique to evaluate the testicular function and its correlation to the sperm quality after different collection frequency in rams. **Frontiers in Veterinary Science**, 9:, doi:10.3389/fvets.2022.1035036.

Mortimer S, Horst G der, Mortimer D (2015) The future of computer-aided sperm analysis. **Asian Journal of Andrology**, 17:545., doi:10.4103/1008-682X.154312.

Olasege BS, Tahir MS, Gouveia GC, Kour J, Porto-Neto LR, Hayes BJ, Fortes MRS (2021) Genetic parameter estimates for male and female fertility traits using genomic data to improve fertility in Australian beef cattle. **Animal Production Science** (Vol. 61, p. 1863–1872). CSIRO.

Oliveira HR, Ventura HT, Costa EV, Pereira MA, Veroneze R, Duarte M de S, Dias de Siqueira OHGB, Fonseca e Silva F (2018) Meta-analysis of genetic-parameter estimates for reproduction, growth and carcass traits in Nellore cattle by using a random-effects model. **Animal Production Science**, 58:1575., doi:10.1071/AN16712.

Olsen HB, Heringstad B, Klemetsdal G (2020) Genetic analysis of semen characteristic traits in young Norwegian Red bulls. **Journal of Dairy Science**, 103:545–555., doi:10.3168/jds.2019-17291.

Ortiz-Rodriguez JM, Anel-Lopez L, Martin-Munõz P, Lvarez M, Gaitskell-Phillips G, Anel L, Rodriguez-Medina P, Penã FJ, Ortega-Ferrusola C (2017) Pulse Doppler ultrasound as a tool for the diagnosis of chronic testicular dysfunction in stallions. **PLoS ONE**, 12:1–21., doi:10.1371/journal.pone.0175878.

Pagoto JM, Benfica LF, Borges MS, Ligor VA, Canesin RC, Mercadante MEZ, Monteiro FM (2023) Relationship between age, scrotal circumference, postweaning weight and semen quality in Nellore and Caracu bulls: a cross sectional study. **Tropical Animal Health and Production**, 55:, doi:10.1007/s11250-023-03818-7.

Papa FO, Leme DP (2002) Testicular fine needle aspiration cytology from a stallion with testicular degeneration after external genitalia trauma. **Journal of Equine Veterinary Science**, 22:121–124., doi:10.1016/S0737-0806(02)70124-X.

Penitente-Filho JM, Silva FF e, Facioni Guimarães S, Waddington B, da Costa EP, Gomez León V, Siqueira JB, Silva Okano D, Piccolo Maitan P, Guimarães JD (2018) Relationship of testicular biometry with semen variables in breeding soundness evaluation of Nelore bulls. **Animal Reproduction Science**, 196:168–175., doi:10.1016/j.anireprosci.2018.07.010.

Pinggera G, Mitterberger M, Bartsch G, Strasser H, Gradl J, Aigner F, Pallwein L, Frauscher F (2008) Assessment of the intratesticular resistive index by colour Doppler ultrasonography measurements as a predictor of spermatogenesis. **BJU International**, 101:722–726., doi:10.1111/j.1464-410X.2007.07343.x.

Pires BV, Stafuzza NB, de Freitas LA, Mercadante MEZ, Ramos ES, Paz CCP (2021) Expression of candidate genes for residual feed intake in tropically adapted *Bos taurus* and *Bos indicus* bulls under thermoneutral and heat stress environmental conditions. **Journal of Thermal Biology**, 99:, doi:10.1016/j.jtherbio.2021.102998.

Portes JV, Menezes GRO, MacNeil MD, da Silva LOC, Gondo A, Braccini Neto J (2020) Selection indices for Nelore production systems in the Brazilian Cerrado. **Livestock Science**, 242:104309., doi:10.1016/j.livsci.2020.104309.

Porto-Neto LR, Sonstegard TS, Liu GE, Bickhart DM, Da Silva MV, Machado MA, Utsunomiya YT, Garcia JF, Gondro C, Van Tassell CP (2013) Genomic divergence of zebu and taurine cattle identified through high-density SNP genotyping. **BMC Genomics**, 14:876., doi:10.1186/1471-2164-14-876.

Rajak SK, Kumaresan A, Gaurav MK, Aslam M, Mohanty TK, Prasad S, Chakravarty AK, Venkatasubramanian V (2013) *Testicular biometry and semen quality is not altered by the process of fine needle aspiration in crossbred bulls*. **Indian Journal of Animal Sciences** (Vol. 83).

Rawlings N, Evans A, Chandolia R, Bagu E (2008) Sexual Maturation in the Bull. **Reproduction in Domestic Animals**, 43:295–301., doi:10.1111/j.1439-0531.2008.01177.x.

Rodrigues NN, Rossi GF, Vrisman DP, Taira AR, Souza LL, Zorzetto MF, Bastos NM, de Paz CCP, de Lima VFMH, Monteiro FM, Franco Oliveira ME (2020) Ultrasonographic characteristics of the testes, epididymis and accessory sex glands and arterial spectral indices in peri- and post-pubertal Nelore and Caracu bulls. **Animal Reproduction Science**, 212:, doi:10.1016/j.anireprosci.2019.106235.

Saacke RG (2008) Sperm morphology: Its relevance to compensable and uncompensable traits in semen. **Theriogenology**, 70:473–478., doi:10.1016/j.theriogenology.2008.04.012.

Shibahara H, Obara H, Ayustawati, Hirano Y, Suzuki T, Ohno A, Takamizawa S, Suzuki M (2004) Prediction of pregnancy by intrauterine insemination using CASA estimates and strict criteria in patients with male factor infertility. **International Journal of Andrology**, 27:63–68., doi:10.1111/j.0105-6263.2004.00437.x.

Silva MR, Pedrosa VB, Borges-Silva JC, Eler JP, Guimarães JD, Albuquerque LG (2013) Genetic parameters for scrotal circumference, breeding soundness examination and sperm defects in young Nelore bulls. **Journal of Animal Science**, 91:4611–4616., doi:10.2527/jas.2012-6067.

Silva MR, Pedrosa VB, Silva JCB, Eler JP, Guimarães JD, Albuquerque LG (2011) Testicular traits as selection criteria for young Nelore bulls. **Journal of Animal Science**, 89:2061–2067., doi:10.2527/jas.2010-3525.

Silva Neto JB, Peripolli E, da Costa e Silva EV, Espigolan R, Neira JDR, Schettini G, da Costa Filho LCC, Barbosa FB, Macedo GG, Costa-Brunes L, Lobo RB, Pereira ASC, Baldi F (2020) Genetic correlation estimates between age at puberty and growth, reproductive, and carcass traits in young Nelore bulls. **Livestock Science**, 241:104266., doi:10.1016/j.livsci.2020.104266.

Sinowatz, F., & Amselgruber, W. (1986). Postnatal development of bovine Sertoli cells. **Anatomy and Embryology**, 174(3), 413–423. <https://doi.org/10.1007/BF00698792>

Siqueira J, Guimarães J, Pinho R (2013) Relação entre perímetro escrotal e características produtivas e reprodutivas em bovinos de corte: uma revisão. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, 37:3–13.

Siqueira JB, Oba E, Pinho RO, Guimarães SEF, Neto TM, Guimarães JD (2012) Testicular shape and andrological aspects of young Nellore bulls under extensive farming. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 41:612–617., doi:10.1590/S1516-35982012000300020.

Souza FF de, Leme DP, Uechi E, Trinca LA, Lopes MD (2004) Evaluation testicular fine needle aspiration cytology and serum testosterone levels in dogs. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, 41:98–105., doi:10.1590/s1413-95962004000200004.

Staub C, Johnson L (2018, junho 1) Review: Spermatogenesis in the bull. **Animal**. Cambridge University Press.

Strina A, Corda A, Nieddu S, Solinas G, Lilliu M, Zedda MT, Pau S, Ledda S (2016) Annual variations in resistive index (RI) of testicular artery, volume measurements and testosterone levels in bucks. **Comparative Clinical Pathology**, 25:409–413., doi:10.1007/s00580-015-2199-4.

Tan WLA, Neto LRP, Reverter A, McGowan M, Fortes MRS (2023) Sequence level genome-wide associations for bull production and fertility traits in tropically adapted bulls. **BMC Genomics**, 24:, doi:10.1186/s12864-023-09475-2.

Tomlinson M, Jennings A, Macrae A, Truylers I (2017) The value of trans-scrotal ultrasonography at bull breeding soundness evaluation (BBSE): The relationship between testicular parenchymal pixel intensity and semen quality. **Theriogenology**, 89:169–177., doi:10.1016/j.theriogenology.2016.10.020.

Trautwein LGC, Hidalgo MMT, Almeida ABM de, Haddad Neta J, Cardoso GS, Flaiban KKM da C, Silva VW, dos Santos Silva LA, Martins MIM (2024) Evaluation of the testicular artery Doppler velocimetry and its correlation with sperm defects in domestic cats. **Animal Reproduction Science**, 267:, doi:10.1016/j.anireprosci.2024.107515.

Trautwein LGC, Souza AK, Martins MIM (2019) Can testicular artery Doppler velocimetry values change according to the measured region in dogs? **Reproduction in Domestic Animals**, 54:687–695., doi:10.1111/rda.13410.

Uemoto Y, Nagai R, Kinukawa M, Watanabe T, Ogino A, Kurogi K, Satoh M (2024) Estimation of genetic parameters for bull conception rate and its genetic correlations with semen production traits in Japanese Black bulls. **Animal**, 18:, doi:10.1016/j.animal.2024.101137.

Vicente-Carrillo A, Álvarez-Rodríguez M, Rodríguez-Martínez H (2016) The mu (μ) and delta (δ) opioid receptors modulate boar sperm motility. **Molecular Reproduction and Development**, 83:724–734., doi:10.1002/mrd.22675.

Walters AH, Eyestone WE, Saacke RG, Pearson RE, Gwazdauskas FC (2004) Sperm morphology and preparation method affect bovine embryonic development. **Journal of Andrology**, 25:554–563., doi:10.1002/j.1939-4640.2004.tb02826.x.

Wolf FR, Almquist JO, Hale EB (1965) Prepuberal Behavior and Puberal Characteristics of Beef Bulls on High Nutrient Allowance. **Journal of Animal Science**, 24:761–765., doi:10.2527/jas1965.243761x.

Wood MM, Romine LE, Lee YK, Richman KM, O'Boyle MK, Paz DA, Chu PK, Pretorius DH (2010) Spectral Doppler Signature Waveforms in Ultrasonography. **Ultrasound Quarterly**, 26:83–99., doi:10.1097/RUQ.0b013e3181dcbf67.

Wrobel, K.-H. (1990). The Postnatal Development of the Bovine Leydig Cell Population. **Reproduction in Domestic Animals**, 25(2), 51–60. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.1990.tb00681.x>

Yeste M, Bonet S, Rodríguez-Gil JE, Rivera Del Álamo MM (2018) Evaluation of sperm motility with CASA-Mot: which factors may influence our measurements? **Reproduction, Fertility and Development**, 30:789., doi:10.1071/RD17475

CAPÍTULO 2 – IMPACTO DA SELEÇÃO GENÉTICA PARA PESO PÓS-DESMAMA NO DESENVOLVIMENTO REPRODUTIVO DE TOUROS DA RAÇA NELORE

Resumo – A seleção genética para peso pós desmama representa uma estratégia eficaz para aumentar a produção de carne bovina. Entretanto, ainda não se tem convicção sobre o impacto que essa seleção pode causar na reprodução. Diante disso, o objetivo do estudo foi verificar o impacto da seleção genética para peso pós-desmama no desenvolvimento reprodutivo de touros jovens da raça Nelore. Foram utilizados 76 touros jovens da raça Nelore (Ne), provenientes de duas linhas distintas de seleção em dois anos experimentais, sendo: 23 touros jovens da linha Nelore Controle (NeC) com idade média de $14,1 \pm 0,9$ meses e peso corporal médio de $271 \pm 18,5$ kg; e 53 touros jovens da linha Nelore Seleção (NeS) com idade média de $13,9 \pm 0,8$ meses e peso corporal médio de 369 ± 40 kg. As avaliações foram realizadas dos 14 até 24 meses de idade, com intervalo médio de $58,4 \pm 8,5$ dias, totalizando seis avaliações. Em cada avaliação foram obtidos dados de biometria testicular, ultrassonografia testicular modo B, doppler do plexo pampiniforme e avaliação seminal. Dez touros jovens de cada linha seleção foram submetidos à punção aspirativa testicular nas três primeiras avaliações e, aos 18 meses de idade, foram castrados para análise histológica do tecido testicular. Os resultados foram submetidos à análise de variância considerando medidas repetidas no tempo. Touros jovens da linha NeS apresentaram maiores médias quanto à perímetro escrotal ($P < 0,0001$), volume testicular ($P < 0,0001$), velocidade do pico diastólico ($P < 0,0001$) em relação a linha NeC. Nos índices de resistência vascular ($P < 0,0001$) e pulsatilidade ($P < 0,0001$), NeC apresentaram maiores médias quando comparados com NeS. A seleção genética para peso pós-desmama em touros jovens da raça Nelore resultou em maiores valores de perímetro escrotal, volume testicular e velocidade do pico diastólico, indicando um desenvolvimento testicular mais acentuado. No entanto, não foram observadas diferenças entre as linhas de seleção nos parâmetros seminais, citológicos e histológicos. Esses achados sugerem que a seleção para ganho de peso pós-desmama não compromete o desenvolvimento reprodutivo, mas promove

incremento em características biométricas testiculares, sem impacto negativo sobre a qualidade espermática ou a estrutura do tecido testicular.

Palavras-chave: Seleção genética; linha seleção; reprodução bovina; histologia testicular; ultrassom; sistema CASA; Punção aspirativa por agulha fina.

Abstract – Genetic selection for post-weaning weight is an effective strategy to increase beef production. However, there is still uncertainty regarding the impact of this selection on reproduction. Therefore, this study aimed to verify the impact of genetic selection for post-weaning weight on the reproductive development of young Nelore bulls. Seventy-six young Nelore bulls (Ne) from two distinct selection lines were used in two experimental years, as follows: 23 young bulls from the Nelore Control line (NeC) with a mean age of 14.1 ± 0.9 months and a mean body weight of 271 ± 18.5 kg, and 53 young bulls from the Nelore Selection line (NeS) with an average age of 13.9 ± 0.8 months and an average body weight of 369 ± 40 kg. The evaluations were performed from 14 to 24 months of age, with an average interval of 58.4 ± 8.5 days, for a total of six evaluations. Testicular biometry data, B-mode testicular ultrasound, pampiniform plexus Doppler, and seminal evaluation were obtained for each evaluation. Ten young bulls from each selection line underwent testicular aspiration puncture in the first three evaluations and were castrated at 18 months of age for histological analysis of testicular tissue. The results were submitted to analysis of variance considering repeated measures over time. Young bulls from the NeS line had higher mean scrotal circumference ($P < 0.0001$), testicular volume ($P < 0.0001$), and peak diastolic velocity ($P < 0.0001$) than those from the NeC line. In the vascular resistance ($P < 0.0001$) and pulsatility ($P < 0.0001$) indices, NeC had higher means than NeS. Genetic selection for post-weaning weight in young Nelore bulls resulted in higher values for scrotal circumference, testicular volume, and peak diastolic velocity, indicating more pronounced testicular development. However, no differences were observed between the selection lines in terms of seminal, cytological, and histological parameters. These findings suggest that selecting for post-weaning weight gain does not compromise reproductive development but promotes an increase in testicular

biometric characteristics without negatively impacting sperm quality or testicular tissue structure.

Keywords: Genetic selection; selection line; bovine reproduction; testicular histology; ultrasound; CASA system; fine needle aspiration.

1. INTRODUÇÃO

A seleção genética para maior ganho de peso é uma ferramenta amplamente utilizada com o objetivo de aumentar a eficiência produtiva e a rentabilidade da bovinocultura de corte. No entanto, a resposta à seleção pode variar de acordo com o ambiente, sobretudo no que diz respeito à oferta nutricional (Hay e Roberts, 2018). Apesar dos avanços nos programas de melhoramento genético, ainda há escassez de estudos voltados à compreensão dos efeitos da seleção para características de crescimento sobre o desenvolvimento sexual e a função reprodutiva, particularmente em machos.

O perímetro escrotal (PE) é um dos principais critérios utilizados na seleção de reprodutores, por apresentar alta herdabilidade, fácil mensuração e correlação positiva com a produção espermática (Silva et al., 2011; Siqueira et al., 2013). Diversos estudos apontam associação significativa entre o peso corporal e o PE (Silva et al., 2018; Boligon et al., 2010; Brito et al., 2007a). Contudo, as correlações não são de alta magnitude, e parâmetros adicionais, como os do sêmen, devem ser considerados para uma avaliação mais abrangente (Carvalho et al., 2023; Uemoto et al., 2024) sem prejuízos na produtividade de programas de seleção genética (Corbet et al., 2013).

A reprodução é um componente fundamental da produtividade em sistemas de produção bovina, e há evidências de que touros selecionados para maior desempenho produtivo podem apresentar alterações metabólicas que impactam seu desempenho reprodutivo (Bourgon et al., 2018). Esses efeitos podem estar relacionados à redistribuição de recursos energéticos entre os diferentes sistemas corporal (Bourgon et al., 2018) ou até mesmo à modulação hormonal (Brito et al., 2007b), influenciando o desenvolvimento sexual dos touros. Dessa forma, compreender como diferentes estratégias de seleção genética impactam o desenvolvimento reprodutivo masculino

é essencial para equilibrar ganhos produtivos e reprodutivos nos sistemas de criação. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da seleção genética para peso pós-desmama sobre os parâmetros reprodutivos de touros jovens da raça Nelore. Para isso, foram comparadas duas linhas genéticas: uma com diferencial de seleção nulo para peso pós-desmama (Nelore Controle – NeC) e outra com maior mérito genético para essa característica (Nelore Seleção – NeS). Além disso, buscou-se descrever as possíveis diferenças entre essas linhas quanto ao desenvolvimento do sistema reprodutivo masculino, por meio de avaliações ultrassonográficas testiculares, análise da qualidade seminal e exame histológico do tecido testicular.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O projeto experimental foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Instituto de Zootecnia do Estado de São Paulo, que está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) (Protocolo nº 343-2022).

2.1. Animais

Foram utilizados touros jovens da raça Nelore de duas linhas de seleção genética estabelecidas em 1980 no Centro Avançado de Pesquisa de Bovinos de Corte - Instituto de Zootecnia, Sertãozinho/SP. Nestas linhas de seleção os touros jovens para reposição foram selecionados com base no peso pós-desmama dentro de linha seleção e ano de nascimento, ajustado para 378 dias de idade (P378), obtido após prova de ganho de peso em confinamento, conforme descrito por Mercadante et al. (2003) e Benfica et al. (2024). Na linha Nelore Controle (NeC) os touros foram selecionados com base em diferenciais de seleção de P378 próximos de zero (seleção estabilizadora), ou seja, animais com P378 próximo da média do grupo contemporâneo (machos da linha NeC nascidos no mesmo ano). Na linha Nelore Seleção (NeS) os touros foram selecionados com base em maiores diferenciais de seleção de P378, ou seja, animais com os maiores P378 no grupo contemporâneo (machos da linha NeS nascidos no mesmo ano).

O estudo foi feito nos anos de 2022 e 2023, com 76 touros jovens nascidos no ano de 2020 (10 touros jovens NeC com idade inicial de $14,4 \pm 0,9$ meses e peso inicial de 291 ± 16 kg; 24 touros jovens NeS com idade inicial de $13,9 \pm 0,7$ meses e peso inicial de 388 ± 35 kg) e no ano de 2021 (13 touros jovens NeC com idade inicial de $14,0 \pm 1,0$ meses e peso inicial de 252 ± 21 kg; 29 touros jovens NeS com idade inicial de $13,8 \pm 0,8$ meses e peso inicial de 351 ± 46 kg). Durante o período experimental, os animais foram mantidos em pastagem de capim braquiária (*Brachiaria brizantha*) com livre acesso à água e sal proteinado.

Os animais foram avaliados dos 14 aos 24 meses de idade, com intervalos de $58,4 \pm 8,5$ dias, totalizando seis avaliações. Em cada avaliação foram realizadas medidas de biometria, ultrassonografia em modo B e doppler dos testículos, e avaliação da qualidade seminal (Figura 1).

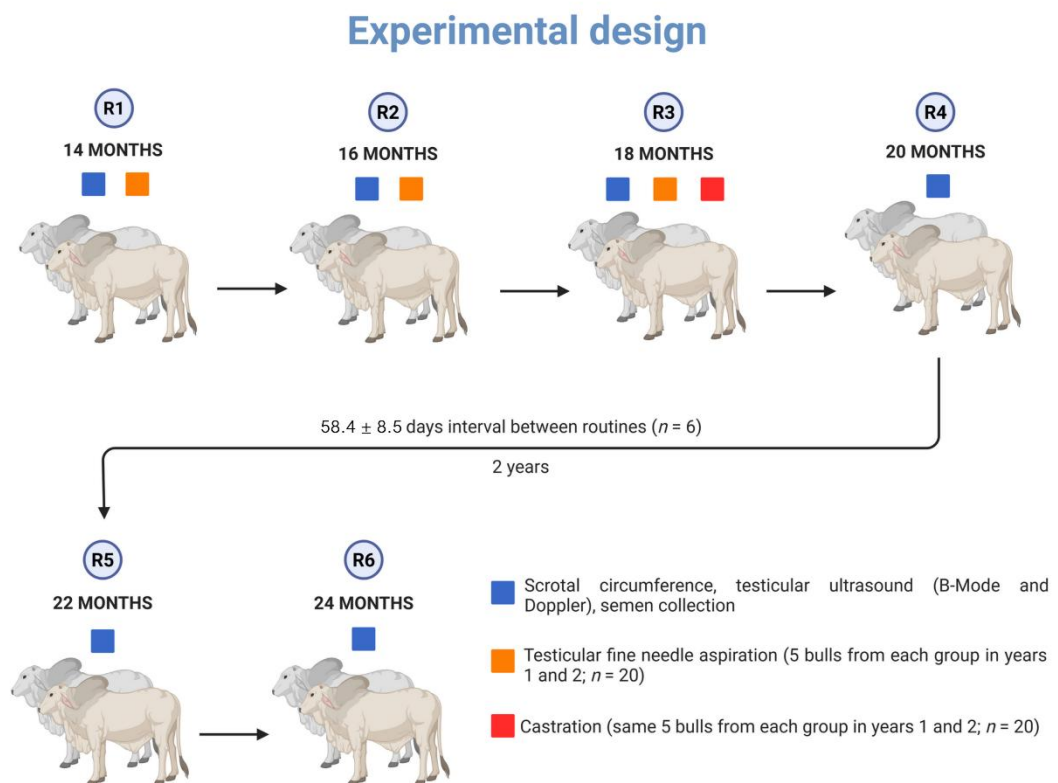


Figura 1 – Desenho experimental para comparar o desenvolvimento reprodutivo de animais de duas linhas de seleção, dos 14 aos 24 meses de idade.

O perímetro escrotal foi mensurado com auxílio de fita milimetrada. As medidas de comprimento e largura de cada testículo foram realizadas com auxílio de paquímetro (Figura 2). O volume testicular foi calculado como descrito por Bailey et al. (1998): $\text{volume} = 0,5236 \times \text{comprimento} \times \text{largura}^2$.



Figura 2 – Mensuração das características biométricas testiculares, sendo: Perímetro escrotal (A), comprimento (B) e largura testicular (C).

2.2. Ultrassonografia testicular

Os exames ultrassonográficos testiculares foram realizados utilizando o equipamento de ultrassom modelo Z5 Vet (Mindray, Shenzhen, China) acoplado ao transdutor linear de 7,5Mhz. Foram realizadas varreduras em plano longitudinal e transversal do testículo direito e esquerdo. As imagens foram salvas em formato bitmap e posteriormente analisadas pelo software Image Pro Plus (Media Cybernetics Inc., San Diego, CA, USA), com valores numéricos de pixel em escala de cinza de 0 (preto absoluto) a 255 (branco absoluto) (Giffin et al., 2009). Foi utilizada a metodologia descrita por Tomlinson et al., (2017); para isso, nas imagens longitudinais foram utilizados 6 círculos, sendo 3 acima e 3 abaixo em relação ao mediastino testicular. Já nas imagens transversais foram utilizados 4 círculos, sendo 2 nas diagonais superiores e 2 nas diagonais inferiores em relação ao mediastino (Figura 3). A Ecogenicidade foi obtida a partir da média da intensidade de pixels entre os pontos avaliados, e a heterogeneidade foi obtida com base na média do desvio padrão dos valores da intensidade de pixels.

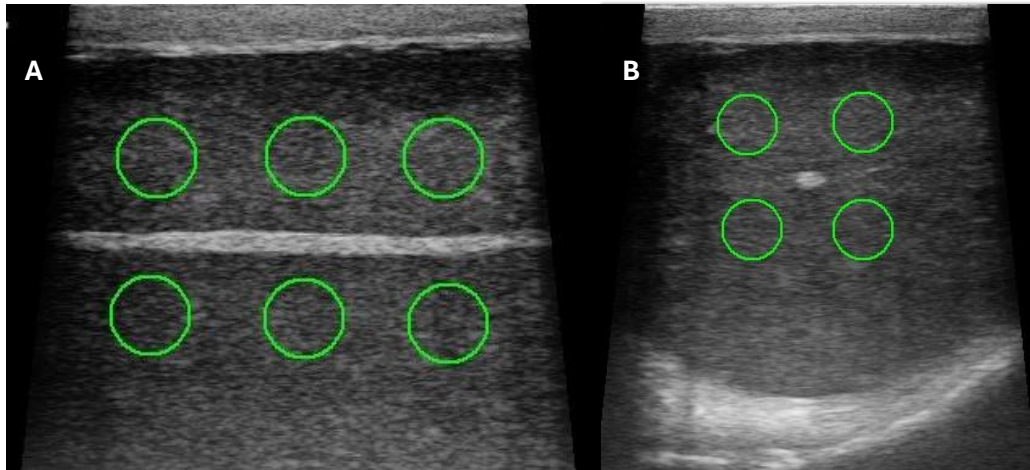


Figura 3 – Mensuração da intensidade de pixels do parênquima testicular a partir da ultrassonografia em modo B; imagens obtidas em plano vertical (A) e transversal (B).

Foram também realizados exames com ultrassom Doppler nos testículos para determinação da média do diâmetro da artéria testicular na região do cordão espermático, utilizando a função caliper presente no ultrassom. O transdutor foi posicionado no centro da luz do vaso de forma que cobrisse pelo menos 2/3 do seu diâmetro, com ângulo de insonação $< 60^\circ$, e então foi definida a curva espectral do fluxo sanguíneo, seguida de índices vasculares, de acordo com metodologia utilizada por Rodrigues et al. (2020). O Doppler Espectral foi utilizado para avaliar os índices vasculares, foi utilizado o mínimo de 3 ondas, sendo utilizados os parâmetros de: velocidade do pico sistólico (PS), velocidade diastólica final (ED), índices de resistência vascular $[IR = (VPS - VDF) / PVS]$ e de pulsatilidade $[IP = (VPS - VDF) / M]$, em que M representa a média entre VPS e VDF] (Wood et al., 2010; Feliciano et al., 2012).

2.3. Avaliação de sêmen

As colheitas de sêmen foram realizadas com os touros jovens contidos em tronco de contenção e com auxílio de eletroejaculador (Autojac®, Neovet®, Uberaba, Minas Gerais, Brasil). Para padronização, foi utilizado um ciclo automático previamente programado para todos os touros jovens e em todas as avaliações. Após colheita da amostra foi determinada a concentração ($\times 10^6$ espermatozoides/mL) por meio de fotômetro (SDM1, Minitub®, Berlin, Alemanha) previamente calibrado para sêmen bovino. A cinética espermática foi determinada por meio do sistema de Análise

Computadorizada do Movimento Espermático (CASA; Hamilton Thorne Research, IVOS-14, EUA). Para tanto, 10 μ L da amostra do sêmen foi depositada em câmara de Makler (Makler Counting Chamber®, Sefi-Medical Instruments Ltda®, Haifa, Israel) previamente aquecida a 38°C. Foram avaliados 5 campos aleatórios, com cerca de 150 espermatozoides por campo. A configuração foi ajustada para a análise de sêmen bovino, de acordo com metodologia proposta por Fernandes et al. (2022). Os seguintes parâmetros cinéticos espermáticos foram utilizados: motilidade total (MT, %), motilidade progressiva (MP, %), porcentagem de espermatozoides rápidos (RAP, %), velocidade média do trajeto (VAP, μ m/s), velocidade em linha reta (VSL, μ m/s), velocidade curvilínea (VCL, μ m/s), amplitude de deslocamento lateral da cabeça (ALH, μ m), frequência de batimento cruzado (BCF, Hz), retidão (STR, %) e linearidade (LIN, %).

A morfologia espermática foi avaliada após diluição do sêmen em solução de PBS contendo 4% de formaldeído, previamente aquecida a 37 °C. As amostras foram analisadas por microscopia de contraste de interferência diferencial (DIC, modelo Nikon NiU, Tóquio, Japão), com aumento de 1000X e empregando a técnica da câmara úmida. Foi realizada a contagem de 200 células por amostra, conforme recomendação do CBRA (2013). As alterações morfológicas foram classificadas em defeitos maiores, menores e totais (Blom, 1973).

A metodologia de Wolf et al. (1965) foi adaptada para a definição da puberdade. A puberdade foi definida quando o primeiro ejaculado apresentou o mínimo de 50×10^6 de espermatozoides e motilidade total de 10%. Já a maturidade sexual foi definida quando o primeiro ejaculado apresentou o mínimo de 50% de espermatozoides móveis e 70% de espermatozoides morfolologicamente normais, sendo o mínimo necessário para o touro ser considerado possivelmente fértil no exame andrológico (CBRA, 2013; Chenoweth e Lorton, 2022).

2.4. Punção aspirativa testicular

Foi puncionado o testículo direito de 5 touros jovens de cada linha seleção (NeC e NeS) em cada ano experimental, totalizando 20 touros jovens puncionados. As punções aspirativas foram realizadas nas primeiras três avaliações, seguindo a

metodologia descrita por Crespilho et al. (2019). Para isso, foi realizada a antisepsia com solução de iodopovidona (Riodeine® 0,5; Rioquímica, São José do Rio Preto – SP, Brasil); a agulha hipodérmica (22G, 25x7mm) foi acoplada em seringa de 10mL, a punção foi realizada perpendicular ao eixo longitudinal do testículo direito, na região média (Figura 4A). Após a total inserção da agulha no parênquima testicular, o êmbolo da seringa foi todo tracionado para criar o vácuo necessário para aspiração das células espermatozóides. A agulha foi movimentada três vezes (sem retirar a agulha do testículo), para promover o deslocamento celular. Posteriormente, o êmbolo foi solto (para tirar o vácuo presente na seringa) e a agulha retirada do parênquima testicular. Para confeccionar as lâminas, a agulha foi desacoplada da seringa, o êmbolo foi tracionado, em seguida a agulha foi novamente acoplada e então o êmbolo foi pressionado empurrando o conteúdo celular presente na agulha em direção a uma lâmina, esse método foi repetido até não sobrar conteúdo celular na agulha. A partir do material recuperado foi conduzida a preparação de esfregaço aposição com duas lâminas, posteriormente as lâminas foram coradas com Panótico rápido (Laborclin®, Pinhais – PR, Brasil) conforme recomendação do fabricante.

A contagem de 200 células da linhagem espermatozóide foi realizada de acordo com metodologia proposta por Bastos et al. (2015), sendo consideradas para contagem diferencial a população (%) de espermatozóides, espermatozóides alongados, espermatozóides alongados, espermatozóides e células de Sertoli (Figura 4B).

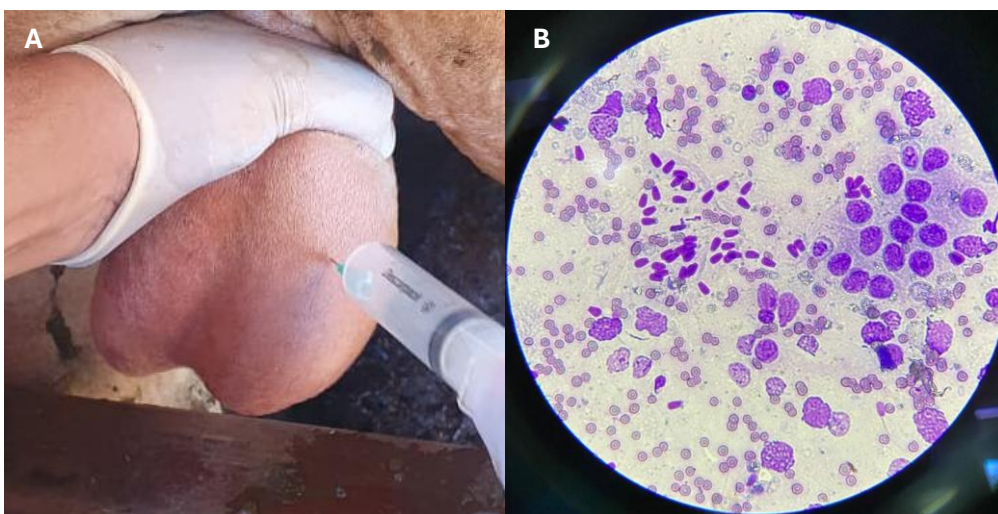


Figura 4 – Punção biópsia aspirativa com agulha fina (A) e imagem da observação com auxílio de microscopia das células do parênquima testicular após esfregaço corado com Panótico rápido (B).

2.5. Histologia testicular

A castração foi realizada quando os touros jovens atingiram média de $18 \pm 0,7$ meses; as castrações foram realizadas nos mesmos animais que foram puncionados. Para a castração foi utilizada a metodologia descrita por Crespilho et al. (2019). Os testículos foram coletados após a castração e posteriormente identificados. Imediatamente após cada procedimento cirúrgico, foi conduzida a coleta dos testículos eles foram higienizados com solução estéril de cloreto de sódio 0,9% e foram seccionados longitudinalmente na região central (Figura 5A). Posteriormente, as amostras foram fixadas e armazenados em formalina a 10% até o momento de processamento. Para o processamento histológico as amostras foram seccionadas em 4mm e imersas em etanol 70% por 48 horas. Os fragmentos foram inclusos em parafina, cortados a cada 4 microns de espessura e corados com hematoxilina e eosina.

Os túbulos seminíferos de cada amostra foram avaliados em microscopia de luz com ampliação de 200x quanto ao diâmetro tubular, espessura de parede tubular e diâmetro do lúmen dos túbulos seminíferos utilizando o software NIS-Elements (v4.0, Nikon Corporation), um total de 10 campos aleatórios foram analisados (Figura 5B). Foi contada a quantidade de túbulos seminíferos presentes em outros 10 campos aleatórios com ampliação de 40x.

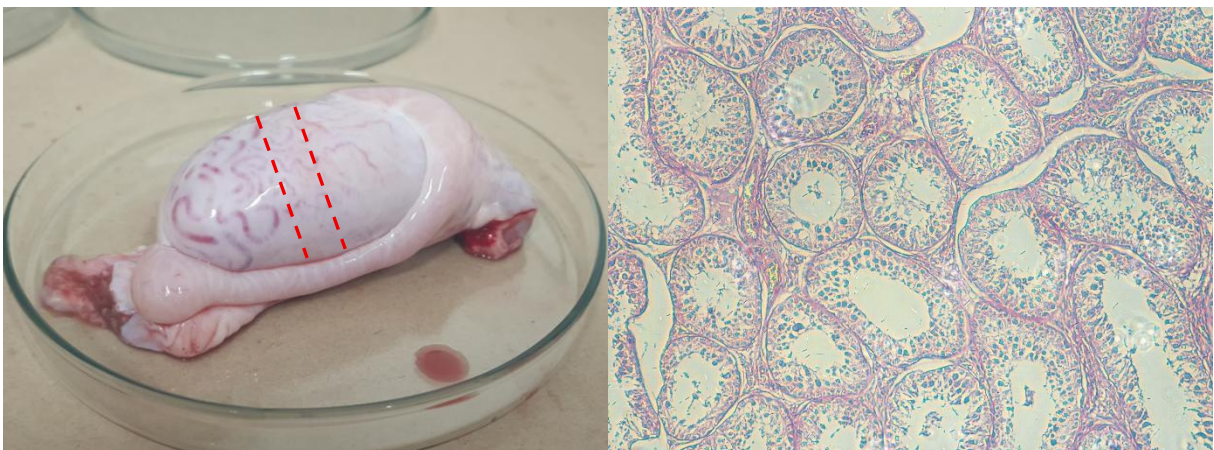


Figura 5 – Representação da região onde foi realizada a secção dos testículos após castração (linhas vermelhas tracejadas) (A) e imagem da observação com auxílio de microscopia dos túbulos seminíferos (B).

2.6. Análise estatística

Para avaliação estatística, foram comparados os testículos de ambos os lados, na ausência de efeito significativo foram consideradas as médias dos testículos direito e esquerdo para as variáveis de biometria testicular (comprimento, largura e volume), ultrassonografia modo B e doppler (diâmetro da artéria testicular, VPS, VPD, IP, IR, ecogenicidade e heterogeneidade), e histologia testicular (diâmetro tubular, espessura de parede tubular e diâmetro do lúmen).

Foi calculada a taxa de desenvolvimento testicular com base no crescimento do perímetro escrotal ao longo das avaliações, bem como a taxa de crescimento total que foi considerada a diferença entre a primeira e a última avaliação. Foi calculada a proporção do diâmetro do Lúmen e da espessura da parede quanto ao diâmetro total de túbulos seminíferos.

Os resultados foram submetidos à análise de variância considerando medidas repetidas com auxílio do programa “Statistical Analysis System” (SAS®, 9.4 version), utilizando-se o procedimento PROC GLIMMIX. Foi ajustado o seguinte modelo estatístico: $y = \mu + \text{ano experimental} + \text{rotina} + \text{linha seleção} + \text{rotina} \times \text{linha seleção} + \varepsilon$, em que, y : variável resposta; μ : média geral; ano experimental (2022, 2023); rotina (1, 2, ..., 6); linha seleção (Nelore Controle-NeC, Nelore Seleção-NeS). A variância residual foi modelada considerando a melhor estrutura de (co)variâncias de acordo com o Critério de Informação de Akaike. As médias foram ajustadas pelo método dos quadrados mínimos (“LSMEANS”) e foram comparadas, quando necessário, por meio da probabilidade da diferença (“PDIFF”), usando o teste “t”. Foi utilizado o teste Qui-quadrado para comparar o estado de desenvolvimento sexual de acordo com a idade. A significância estatística foi declarada quando $P < 0,05$.

3. RESULTADOS

3.1. Biometria testicular

De modo geral todas as variáveis de biometria testicular aumentaram linearmente ao longo das avaliações em ambas as linhas de seleção ($P < 0,05$) (Tabela 1). Em todas as avaliações os touros jovens da linha NeS apresentaram maiores PE

($P=0,0002$), largura ($P=0,0015$) e volume testicular ($P=0,007$) quando comparados aos da linha NeC. Houve diferença entre as linhas de seleção na taxa de desenvolvimento testicular ao longo do tempo. Já para comprimento ($P=0,08$) e taxa de desenvolvimento testicular total ($P=0,07$) não foram observadas diferenças entre as linhas de seleção.

Tabela 1 – Médias ajustadas (média ± EP) da biometria testicular por idade dos touros jovens das linhas de seleção Nelore controle (NeC) e Nelore seleção (NeS)

	Idade (meses)						Média
	14	16	18	20	22	24	
NeC	(n = 22)	(n = 22)	(n = 22)	(n = 12)	(n = 12)	(n = 11)	
Peso corporal (kg)	263,7 ± 7,8 ^{Bf}	274,7 ± 7,5 ^{Be}	289,1 ± 6,2 ^{Bd}	303,8 ± 6,5 ^{Bc}	377,7 ± 9,1 ^{Bb}	417,1 ± 9,2 ^{Ba}	326,4 ± 8,2 ^B
PE (cm)	22,8 ± 0,5 ^{Bf}	24,3 ± 0,3 ^{Be}	25,5 ± 0,5 ^{Bd}	26,8 ± 0,6 ^{Bc}	30,1 ± 0,6 ^{Bb}	32,3 ± 0,6 ^{Ba}	26,9 ± 0,5 ^B
Comprimento (cm)	7,6 ± 0,4 ^c	8,1 ± 0,4 ^{bc}	8,5 ± 0,3 ^b	9,2 ± 0,3 ^b	10,5 ± 0,3 ^a	10,9 ± 0,3 ^a	9,4 ± 0,2
Largura (cm)	4,4 ± 0,2 ^{Be}	4,7 ± 0,2 ^{Bde}	4,7 ± 0,2 ^{Bd}	5,4 ± 0,2 ^{Bc}	5,8 ± 0,2 ^{Bb}	6,3 ± 0,1 ^{Ba}	5,3 ± 0,1 ^B
Volume (cm ³)	86,7 ± 9,1 ^{Bf}	102,4 ± 9,5 ^{Be}	120,6 ± 10,4 ^{Bd}	166,0 ± 14,1 ^{Bc}	202,4 ± 15,2 ^{Bb}	239,7 ± 12,5 ^{Ba}	152,9 ± 9,1 ^B
Desenvolvimento Testicular (%)	-	7,1 ± 1,0 ^{Ab}	4,9 ± 1,0 ^{Bc}	6,7 ± 1,3 ^{bc}	12,3 ± 1,4 ^a	7,2 ± 1,4 ^{Ab}	39,6 ± 3,5
NeS	(n = 53)	(n = 53)	(n = 53)	(n = 43)	(n = 36)	(n = 13)	
Peso corporal (kg)	365,4 ± 5,3 ^{Af}	366,6 ± 4,6 ^{Ae}	407,2 ± 17,9 ^{Ad}	420,1 ± 6,1 ^{Ac}	545,4 ± 6,9 ^{Ab}	657,0 ± 14,9 ^{Aa}	460,3 ± 6,2 ^A
PE (cm)	25,3 ± 0,3 ^{Af}	26,4 ± 0,3 ^{Ae}	27,9 ± 0,3 ^{Ad}	29,3 ± 0,4 ^{Ac}	32,9 ± 0,4 ^{Ab}	33,9 ± 0,5 ^{Aa}	29,3 ± 0,3 ^A
Comprimento (cm)	7,9 ± 0,2 ^d	9,3 ± 0,2 ^c	9,6 ± 0,1 ^{bc}	9,8 ± 0,1 ^b	11,1 ± 0,2 ^a	11,3 ± 0,2 ^a	9,8 ± 0,2
Largura (cm)	4,8 ± 0,2 ^{Ad}	5,3 ± 0,1 ^{Ad}	5,4 ± 0,1 ^{Ac}	5,8 ± 0,1 ^{Ab}	6,5 ± 0,1 ^{Aa}	6,6 ± 0,1 ^{Aa}	5,7 ± 0,1 ^A
Volume (cm ³)	107,7 ± 5,8 ^{Af}	139,5 ± 6,2 ^{Ae}	155,7 ± 6,7 ^{Ad}	181,3 ± 8,9 ^{Ac}	253,6 ± 9,0 ^{Ab}	262,9 ± 11,7 ^{Aa}	183,2 ± 6,1 ^A
Desenvolvimento Testicular (%)	-	4,6 ± 0,6 ^{Bc}	6,1 ± 0,7 ^{Ab}	5,2 ± 0,8 ^{bc}	12,9 ± 0,8 ^a	3,0 ± 0,1 ^{Bd}	35,2 ± 3,6

Letras maiúsculas sobrescritas representam diferença significativa entre os rebanhos dentro da mesma idade (P<0,05), Letras minúsculas sobrescritas representam diferença significativa do rebanho entre as idades (P<0,05). PE: perímetro escrotal; Desenvolvimento Testicular: Taxa de crescimento testicular com base no perímetro escrotal.

3.2. Ultrassonografia

Com a avaliação de ultrassonografia doppler (Tabela 2), foi observado aumento do diâmetro da artéria testicular ($P < 0,0001$) e da velocidade do PS ($P < 0,0001$) ao longo do tempo, sem diferença entre as linhas de seleção ($P = 0,31$ e $P = 0,20$, respectivamente). A velocidade do pico diastólico (ED) também aumentou com a idade; entretanto, os touros jovens da linha NeS apresentaram valores superiores aos da linha NeC. Por outro lado, os índices de pulsatilidade (PI) e de resistência (RI) apresentaram redução com o avanço da idade ($P = 0,01$ e $P = 0,02$, respectivamente), sendo que os animais da linha NeC mostraram valores mais elevados em comparação com os da linha NeS.

Na avaliação ultrassonográfica testicular (Tabela 2), foi observado aumento da ecogenicidade do parênquima testicular ($P < 0,0001$) nas primeiras avaliações, atingindo um pico aos 18 meses, seguido de uma redução nas avaliações posteriores. A linha NeS apresentou maior ecogenicidade ($P = 0,02$) em comparação com a linha NeC. Em relação à heterogeneidade, houve variação entre as idades ($P < 0,0001$), porém sem um padrão definido. A linha NeC apresentou maior heterogeneidade do parênquima testicular que a linha NeS ($P = 0,003$).

Tabela 2 – Médias ajustadas (média ± EP) dos parâmetros ultrassonográficos por idade dos touros jovens das linhas de seleção Nelore controle (NeC) e Nelore seleção (NeS)

	Idade (meses)						Média
	14	16	18	20	22	24	
NeC	(n = 22)	(n = 22)	(n = 22)	(n = 12)	(n = 12)	(n = 11)	
Diâmetro (cm)	0,19 ± 0,02 ^b	0,19 ± 0,02 ^b	0,21 ± 0,03 ^b	0,21 ± 0,04 ^b	0,22 ± 0,02 ^b	0,26 ± 0,02 ^a	0,22 ± 0,01
PS (cm/s)	9,7 ± 0,4 ^c	11,7 ± 0,6 ^b	11,0 ± 0,5 ^b	11,3 ± 0,7 ^b	13,4 ± 0,7 ^a	14,1 ± 0,7 ^a	11,9 ± 0,4
ED (cm/s)	4,2 ± 0,4 ^c	4,5 ± 0,5 ^{Bc}	5,0 ± 0,5 ^{Bc}	6,1 ± 0,6 ^b	6,9 ± 0,7 ^{ab}	7,7 ± 0,7 ^a	5,7 ± 0,3 ^B
PI	0,93 ± 0,08 ^a	1,10 ± 0,09 ^{Aa}	0,85 ± 0,07 ^{Ab}	0,79 ± 0,09 ^{bc}	0,69 ± 0,09 ^{cd}	0,60 ± 0,07 ^{Ad}	0,82 ± 0,05 ^A
RI	0,71 ± 0,08 ^{Aa}	0,60 ± 0,04 ^{Aab}	0,54 ± 0,03 ^{Ab}	0,46 ± 0,04 ^c	0,48 ± 0,05 ^{bc}	0,43 ± 0,05 ^c	0,53 ± 0,03 ^A
Ecogenicidade	78,2 ± 2,4 ^c	93,4 ± 2,0 ^{Bab}	97,3 ± 1,27 ^{Ba}	93,1 ± 3,0 ^{ab}	89,9 ± 3,7 ^{Bb}	68,6 ± 4,8 ^{Bd}	86,1 ± 1,8 ^B
Heterogeneidade	12,7 ± 0,3 ^{Ab}	12,7 ± 0,2 ^b	15,1 ± 0,5 ^{Aa}	12,8 ± 0,4 ^{Ab}	11,5 ± 0,5 ^c	14,5 ± 0,7 ^{Aa}	13,2 ± 0,3 ^A
NeS	(n = 53)	(n = 53)	(n = 53)	(n = 43)	(n = 36)	(n = 13)	
Diâmetro (cm)	0,16 ± 0,01 ^c	0,20 ± 0,02 ^b	0,21 ± 0,02 ^b	0,23 ± 0,02 ^b	0,28 ± 0,01 ^a	0,28 ± 0,02 ^a	0,23 ± 0,007
PS (cm/s)	9,4 ± 0,3 ^d	11,3 ± 0,4 ^c	12,1 ± 0,3 ^b	12,3 ± 0,4 ^b	14,8 ± 0,4 ^a	14,5 ± 0,7 ^a	12,4 ± 0,2
ED (cm/s)	4,5 ± 0,2 ^d	6,1 ± 0,3 ^{Ac}	6,5 ± 0,3 ^{Ac}	6,9 ± 0,4 ^c	8,3 ± 0,4 ^b	9,3 ± 0,8 ^a	6,9 ± 0,2 ^A
PI	0,93 ± 0,06 ^a	0,73 ± 0,05 ^{Bb}	0,71 ± 0,04 ^{Bbc}	0,72 ± 0,05 ^{bc}	0,64 ± 0,04 ^c	0,49 ± 0,06 ^{Bd}	0,71 ± 0,03 ^B
RI	0,53 ± 0,05 ^{Ba}	0,46 ± 0,02 ^{Bb}	0,46 ± 0,02 ^{Bb}	0,45 ± 0,02 ^b	0,44 ± 0,02 ^{bc}	0,37 ± 0,05 ^{bc}	0,45 ± 0,02 ^B
Ecogenicidade	77,3 ± 2,2 ^c	97,3 ± 1,5 ^{Ab}	103,6 ± 1,5 ^{Aa}	96,1 ± 2,1 ^b	96,1 ± 3,0 ^{Ab}	72,2 ± 4,4 ^{Ac}	90,4 ± 1,3 ^A
Heterogeneidade	11,8 ± 0,3 ^{Bb}	12,6 ± 0,2 ^a	12,5 ± 0,5 ^{Ba}	11,6 ± 0,3 ^{Bb}	11,1 ± 0,4 ^b	13,3 ± 0,7 ^{Ba}	12,3 ± 0,2 ^B

Letras maiúsculas sobrescritas representam diferença significativa entre os rebanhos dentro da mesma idade (P<0,05), Letras minúsculas sobrescritas representam diferença significativa do rebanho entre as idades (P<0,05). PS: velocidade do pico sistólico; ED: velocidade diastólica final; RI: índice de resistência vascular; PI: índice de pulsatilidade.

3.3. Avaliação seminal

Na avaliação seminal (Tabela 3), foi observado aumento da concentração espermática ($P=0,03$), MT ($P=0,01$) e MP ($P=0,02$), além de uma redução na porcentagem de defeitos maiores, menores e totais ($P<0,0001$), com o avanço da idade. As demais variáveis apresentaram variação em função da idade ($P<0,05$), porém sem um padrão definido, exceto para VCL e ALH que não mostraram diferenças ao longo do tempo. Não foram observadas diferenças entre as duas linhas de seleção para nenhuma das variáveis seminais ($P>0,05$). Não houve diferença entre as linhas de seleção quanto à proporção de touros jovens em diferentes estágios de desenvolvimento sexual nas idades avaliadas ($P=0,35$). Cerca de 23% dos touros jovens estavam em puberdade aos 14 meses (Figura 2). Aos 20 meses, todos os touros jovens já haviam atingido ou superado a puberdade, e aos 24 meses, encontravam-se em maturidade sexual.

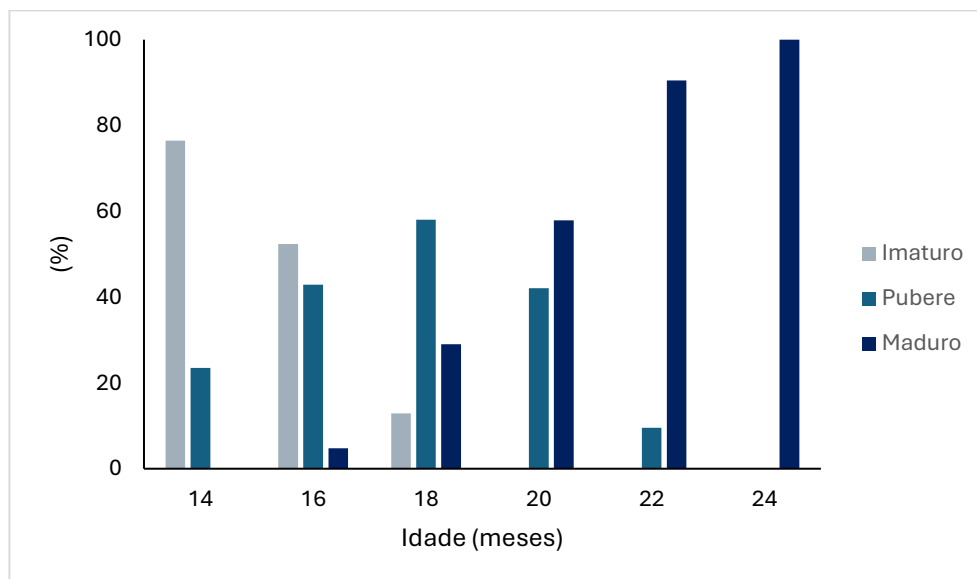


Figura 1 – Proporção de touros jovens Imaturos, Púberes e em Maturidade Sexual de acordo com a idade.

Tabela 3 - Médias ajustadas (média ± EP) dos parâmetros seminais por idade dos touros jovens das linhas de seleção Nelore controle (NeC) e Nelore seleção (NeS)

	Idade (meses)						Média
	14	16	18	20	22	24	
NeC	(n = 8)	(n = 10)	(n = 13)	(n = 8)	(n = 8)	(n = 8)	
Concentração (x10 ⁶ /ml)	69,3 ± 81,5 ^d	137,8 ± 90,4 ^{cd}	190,1 ± 90,8 ^{bc}	216,3 ± 93,8 ^{bc}	267,5 ± 104,2 ^{ab}	392,1 ± 90,4 ^a	214,8 ± 66,3
MT (%)	28,4 ± 27,3 ^c	50,4 ± 10,4 ^b	56,1 ± 10,4 ^{ab}	43,5 ± 10,6 ^{bc}	55,7 ± 12,3 ^{ab}	75,5 ± 10,4 ^a	51,6 ± 6,5
MP (%)	10,4 ± 21,8 ^c	35,5 ± 8,5 ^{bc}	38,2 ± 8,5 ^{bc}	40,4 ± 8,7 ^{ab}	39,9 ± 9,7 ^{ab}	52,3 ± 8,5 ^a	33,3 ± 5,6
RAP (%)	40,9 ± 27,5 ^b	43,6 ± 10,5 ^b	45,9 ± 10,5 ^b	26,1 ± 10,7 ^c	46,1 ± 12,4 ^b	66,1 ± 10,5 ^a	49,8 ± 6,7
VAP (µm/s)	72,1 ± 18,1 ^{bc}	74,0 ± 7,0 ^b	73,9 ± 7,1 ^b	89,1 ± 7,3 ^a	63,9 ± 8,3 ^c	71,5 ± 7,1 ^{bc}	74,1 ± 4,8
VSL (µm/s)	52,3 ± 13,7 ^{bc}	59,7 ± 5,4 ^b	56,0 ± 5,4 ^b	75,2 ± 5,6 ^a	49,8 ± 6,3 ^c	59,4 ± 5,4 ^b	58,7 ± 3,7
VCL (µm/s)	130,6 ± 34,4	131,6 ± 13,2	138,5 ± 13,2	151,9 ± 13,5	110,5 ± 15,6	116,4 ± 13,2	129,9 ± 8,5
ALH (µm)	6,3 ± 1,7	5,9 ± 0,6	6,7 ± 0,6	5,7 ± 0,6	4,9 ± 0,7	5,1 ± 0,6	5,7 ± 0,4
BCF (Hz)	25,0 ± 7,9 ^{bc}	24,2 ± 3,0 ^{bc}	29,4 ± 3,0 ^b	38,7 ± 3,2 ^a	21,9 ± 3,6 ^c	24,4 ± 3,1 ^{bc}	27,3 ± 2,1
STR (%)	66,5 ± 18,1 ^{bc}	62,5 ± 7,1 ^{cd}	75,8 ± 7,1 ^b	86,6 ± 7,4 ^a	61,6 ± 8,3 ^{cd}	56,9 ± 7,1 ^d	68,3 ± 4,9
LIN (%)	37,3 ± 11,3 ^b	39,2 ± 4,6 ^b	43,8 ± 4,6 ^b	54,1 ± 4,8 ^a	37,4 ± 5,3 ^b	38,2 ± 4,6 ^b	41,7 ± 3,4
Def Maior (%)	45,4 ± 15,2 ^a	45,9 ± 5,8 ^a	24,1 ± 5,8 ^b	25,4 ± 5,9 ^b	13,0 ± 7,6 ^c	15,3 ± 5,8 ^c	28,2 ± 3,6
Def Menor (%)	31,1 ± 7,6 ^a	11,1 ± 2,9 ^c	7,2 ± 2,9 ^d	20,1 ± 2,8 ^b	3,1 ± 3,9 ^d	2,6 ± 2,9 ^d	12,5 ± 1,6
Def Total (%)	77,9 ± 16,6 ^a	57,9 ± 6,3 ^b	31,9 ± 6,3 ^c	44,9 ± 6,4 ^c	15,4 ± 8,3 ^d	17,4 ± 6,3 ^d	40,9 ± 3,9
NeS	(n = 8)	(n = 14)	(n = 24)	(n = 18)	(n = 16)	(n = 10)	
Concentração (x10 ⁶ /ml)	52,3 ± 79,3 ^c	141,1 ± 101,6 ^b	158,2 ± 62,3 ^b	233,2 ± 62,5 ^{ab}	221,9 ± 59,1 ^{ab}	305,9 ± 75,5 ^a	179,8 ± 42,9
MT (%)	41,21 ± 19,4 ^c	42,9 ± 7,3 ^c	61,1 ± 5,6 ^{bc}	72,1 ± 7,3 ^{ab}	73,5 ± 6,9 ^a	72,2 ± 8,8 ^{ab}	58,8 ± 4,4
MP (%)	25,4 ± 15,5 ^{cd}	20,9 ± 5,7 ^d	39,9 ± 4,6 ^{bc}	49,9 ± 5,9 ^{ab}	56,6 ± 5,6 ^a	50,4 ± 7,2 ^a	40,5 ± 3,7
RAP (%)	56,9 ± 19,5 ^a	24,4 ± 7,4 ^b	59,5 ± 5,7 ^a	58,5 ± 7,4 ^a	63,8 ± 6,9 ^a	62,8 ± 8,9 ^a	54,1 ± 4,5
VAP (µm/s)	74,6 ± 12,9 ^a	53,1 ± 4,9 ^b	79,5 ± 3,8 ^a	78,4 ± 4,9 ^a	71,6 ± 4,6 ^a	52,4 ± 6,0 ^b	68,3 ± 3,2
VSL (µm/s)	59,3 ± 9,8 ^b	42,9 ± 3,8 ^c	67,3 ± 2,9 ^a	64,0 ± 3,8 ^{ab}	59,8 ± 3,5 ^b	43,2 ± 4,6 ^c	56,1 ± 2,5
VCL (µm/s)	131,0 ± 24,4	94,1 ± 9,3	129,8 ± 7,1	132,3 ± 9,3	115,2 ± 8,7	90,3 ± 11,2	115,4 ± 5,7
ALH (µm)	5,7 ± 1,2	4,4 ± 0,4	5,5 ± 0,3	5,8 ± 0,4	5,1 ± 0,4	4,3 ± 0,5	5,1 ± 0,3
BCF (Hz)	30,7 ± 5,6 ^{ab}	27,1 ± 2,1 ^b	34,4 ± 1,7 ^a	32,0 ± 2,1 ^a	28,2 ± 2,0 ^b	19,5 ± 2,6 ^c	28,6 ± 1,4
STR (%)	71,9 ± 12,9 ^b	66,8 ± 5,0 ^b	81,8 ± 3,8 ^a	80,3 ± 4,9 ^a	82,9 ± 4,7 ^a	40,9 ± 6,1 ^c	70,8 ± 3,2
LIN (%)	41,9 ± 8,1 ^b	39,4 ± 3,2 ^b	52,4 ± 2,5 ^a	49,9 ± 3,2 ^{ab}	54,6 ± 3,0 ^a	27,4 ± 3,9 ^c	44,3 ± 2,2
Def Maior (%)	47,2 ± 10,8 ^a	41,3 ± 4,1 ^a	21,5 ± 3,1 ^b	21,4 ± 4,1 ^b	20,5 ± 3,1 ^b	7,6 ± 3,8 ^c	24,4 ± 2,4
Def Menor (%)	29,9 ± 5,3 ^a	10,7 ± 2,0 ^b	6,4 ± 1,5 ^c	7,0 ± 2,0 ^{bc}	2,0 ± 1,9 ^d	1,6 ± 2,3 ^d	9,5 ± 1,1
Def Total (%)	77,5 ± 11,7 ^a	52,1 ± 4,4 ^b	27,9 ± 3,4 ^c	28,4 ± 4,4 ^c	9,6 ± 4,1 ^d	9,4 ± 5,3 ^d	34,1 ± 2,7

Letras maiúsculas sobrescritas representam diferença significativa entre os rebanhos dentro da mesma idade (P<0,05). Letras minúsculas sobrescritas representam diferença significativa do rebanho entre as idades (P<0,05).

MT: motilidade total; MP: motilidade progressiva; RAP: porcentagem de espermatozoides rápidos; VAP: velocidade média de trajeto; VSL: velocidade em linha reta; VCL: velocidade curvilínea; ALH: amplitude lateral de cabeça; BCF: batimento flagelar cruzado; STR: retidão; LIN: linearidade; Def Maior: porcentagem de defeitos maiores; Def Menor: porcentagem de defeitos menores; Def Total: porcentagem de defeitos totais.

3.4. Citologia aspirativa

Na contagem diferencial de células pela punção aspirativa (Tabela 4), foi observado aumento da quantidade de espermátides ($P<0,0001$) e espermatozoides ($P=0,03$), além de uma redução na quantidade de células de Sertoli ($P=0,01$) com avanço da idade. Não foram identificadas diferenças entre as linhas seleção, independente da rotina de avaliação considerada ($P>0,05$).

Tabela 4 – Médias ajustadas (média \pm EP) das variáveis da citologia aspirativa dos touros jovens das linhas de seleção Nelore controle (NeC) e Nelore seleção (NeS)

	14	16	18	Média
NeC	(n = 10)	(n = 10)	(n = 10)	
Espermatogônia (%)	7,8 \pm 1,2	7,4 \pm 2,2	3,3 \pm 2,5	6,2 \pm 1,2
Espermátide (%)	7,6 \pm 1,7 ^b	10,1 \pm 2,9 ^b	22,4 \pm 7,7 ^a	12,3 \pm 1,6
Espermátide alongada (%)	20,1 \pm 4,0 ^c	31,2 \pm 6,8 ^b	43,3 \pm 3,3 ^a	28,2 \pm 3,9
Espermatócito (%)	12,1 \pm 1,5	7,9 \pm 2,5	4,7 \pm 2,8	8,3 \pm 1,5
Espermatozoide (%)	10,5 \pm 2,2 ^b	22,9 \pm 2,9 ^a	23,9 \pm 3,2 ^a	18,4 \pm 1,5
Sertoli (%)	45,7 \pm 4,7 ^a	30,3 \pm 8,2 ^b	10,4 \pm 9,3 ^c	28,8 \pm 4,7
NeS	(n = 10)	(n = 10)	(n = 10)	
Espermatogônia (%)	5,8 \pm 1,6	6,6 \pm 2,5	1,9 \pm 2,9	4,8 \pm 1,5
Espermátide (%)	9,1 \pm 2,1 ^b	11,3 \pm 3,3 ^b	23,9 \pm 9,1 ^a	13,7 \pm 1,8
Espermátide alongada (%)	28,7 \pm 5,0 ^b	27,1 \pm 7,7 ^b	44,6 \pm 3,9 ^a	30,5 \pm 4,4
Espermatócito (%)	12,1 \pm 1,7	7,7 \pm 2,9	14,2 \pm 3,4	11,3 \pm 1,7
Espermatozoide (%)	13,8 \pm 2,3 ^c	19,3 \pm 3,2 ^b	25,1 \pm 3,7 ^a	19,4 \pm 1,7
Sertoli (%)	36,9 \pm 5,6 ^a	37,1 \pm 9,3 ^a	9,6 \pm 9,1 ^b	24,9 \pm 5,3

Letras maiúsculas sobrescritas representam diferença significativa entre os rebanhos dentro da mesma idade ($P<0,05$). Letras minúsculas sobrescritas representam diferença significativa do rebanho entre as idades ($P<0,05$).

3.5. Histologia

Na análise histológica do parênquima testicular (Tabela 5), não foram encontradas diferenças entre as linhas de seleção NeC e NeS para diâmetro do lúmen e do túbulo seminífero, à espessura da parede do túbulo seminífero, nem às respectivas proporções.

Tabela 5 – Médias ajustadas (média \pm EP) das variáveis histológicas dos touros jovens das linhas de seleção Nelore controle (NeC) e Nelore seleção (NeS)

	NeC	NeS
	(n = 10)	(n = 10)
Lúmen (μm)	80,2 \pm 3,2	78,6 \pm 3,1
Parede (μm)	52,2 \pm 2,2	55,1 \pm 2,2
Diâmetro Túbulos Seminíferos (μm)	179,9 \pm 5,3	179,1 \pm 5,1
XTS	95,9 \pm 6,4	96,8 \pm 6,3
Lúmen x Túbulo	44,3 \pm 0,9	43,9 \pm 0,9
Lúmen x Parede	67,0 \pm 3,9	71,5 \pm 3,8
Parede x Túbulo	29,1 \pm 1,4	30,9 \pm 1,3

XTS: Quantidade média de túbulos seminíferos por campo (em aumento de 40x); Lúmen x Túbulo: razão do tamanho do lúmen pelo diâmetro do túbulo seminífero; Lúmen x Parede: razão do tamanho do lúmen pela espessura da parede do túbulo seminífero; Parede x Túbulo: razão da espessura de parede pelo diâmetro total do túbulo seminífero.

4. DISCUSSÃO

A seleção genética para peso pós-desmana ou para crescimento proporciona aumento substancial na qualidade e/ou quantidade de características de produção desejáveis. Na criação de bovinos, são selecionados atributos que favorecem maior peso corporal no período desejável, visando o aumento do rendimento de carcaça no menor tempo possível. A seleção com base no peso aos 378 dias (P378) pode influenciar positivamente, ainda que de forma indireta, a precocidade produtiva e sexual. O desenvolvimento sexual de touros jovens é uma etapa fundamental na cadeia produtiva da bovinocultura de corte, estando diretamente relacionado com o ganho de peso diário e ao peso corporal dos animais (Brito, 2024).

O PE representa umas das características reprodutivas mais avaliadas, devido à sua forte associação com a produção espermática (Kastelic, 2014). No presente estudo, os animais da linha NeS apresentaram maiores valores de PE em todas as avaliações quando comparados aos da linha NeC. Esses resultados estavam dentro das expectativas, uma vez que estudos anteriores associaram o PE ao peso corporal (Silva et al., 2018; Makarechian et al., 1984) e a características fisiológicas relacionadas ao ganho de peso (Brito et al., 2007b; Lirón et al., 2012). Diversos estudos têm demonstrado correlações genéticas positivas, de magnitude moderada a alta, entre o peso corporal e o PE avaliados em diferentes idades (Silva et al., 2018; Boligon et al., 2010; Burrow, 2001; Corbet et al., 2013). Embora, em média, os animais da linha NeS tenham apresentado maior peso corporal do que os da linha NeC, o desenvolvimento testicular foi semelhante entre ambas as linhas de seleção durante o período experimental, mesmo com variações associadas as idades. Esses resultados sugerem que a seleção de animais para maior peso corporal pode resultar, indiretamente, em aumento do PE. No entanto, esse aumento no PE parece ocorrer de forma proporcional ao aumento do peso corporal (Makarechian et al., 1984).

No presente estudo o diâmetro da artéria testicular na porção do cone vascular apresentou aumento ao longo do tempo. Consequentemente, houve elevação das velocidades de pico sistólico (PS) e diastólica final (ED), bem como redução dos índices de PI e de RI. Esses achados podem ser explicados pelo fato de que vasos com maior diâmetro oferecem menor resistência ao fluxo sanguíneo, o que se reflete

em menores valores de PI e RI, visto que esses índices indicam a resistência vascular ao fluxo (Strina et al., 2016). De forma concomitante, a velocidade média do sangue também tende a aumentar.

Os touros jovens da linha NeS apresentaram maior velocidade ED e menores índices de PI e RI em comparação com os da linha NeC. Apesar das diferenças observadas entre as linhas de seleção para essas variáveis, os valores observados neste estudo são similares com aqueles relatados para a raça Nelore (Fernandes et al., 2022; Rodrigues et al., 2020; Barca Júnior et al., 2018).

As diferenças nos parâmetros vasculares observadas entre as linhas de seleção no presente estudo podem refletir distintas demandas metabólicas testiculares. Os maiores valores de PE e volume testicular observados nos animais NeS, em comparação aos NeC, sugerem maior atividade funcional do parênquima testicular e, conseqüentemente, maior exigência por aporte sanguíneo. Segundo Strina et al. (2016), a redução da resistência vascular testicular está associada ao aumento do volume testicular e da produção de testosterona, indicando que o maior fluxo sanguíneo pode estar relacionado ao aumento da atividade metabólica do tecido testicular.

A ecogenicidade foi maior e a heterogeneidade menor na linha NeS em comparação com os da linha NeC. A ecogenicidade está associada à produção espermática (Brito et al., 2012); contudo, no presente estudo, não foram observadas diferenças nas variáveis seminais entre as linhas de seleção. O aumento da ecogenicidade corrobora os relatados por Brito et al. (2004). Entretanto, no presente estudo, o pico de ecogenicidade ocorreu aos 18 meses de idade, o que é mais tardio do que os relatos na literatura para animais taurinos (Brito et al., 2012) e cruzados *Bos taurus* x *Bos indicus* (Brito et al., 2004). Tal diferença pode estar relacionado com o atraso no desenvolvimento sexual característico de zebuínos em comparação aos taurinos.

No presente estudo, foi observado aumento progressivo da concentração espermática, MT e MP, acompanhado pela redução dos defeitos maiores, menores e totais com avanço da idade. Tais parâmetros são fundamentais para caracterizar o desenvolvimento sexual e para a determinação da puberdade e maturidade sexual, uma vez que estão diretamente associados ao potencial reprodutivo do touro (Brito et

al., 2004; Engelken, 2008). As alterações observadas ao longo do tempo coincidiram com a proporção de animais classificados nos diferentes estágios de desenvolvimento sexual nas respectivas idades avaliadas. Não foram observadas diferenças entre as linhas seleção em nenhuma das variáveis seminais, sugerindo que a seleção para peso pós desmame não influenciou a qualidade seminal em touros jovens Nelore.

Na avaliação da citologia aspirativa, não foram observadas diferença entre as linhas de seleção. No entanto, foi possível identificar mudanças no padrão celular ao longo das idades avaliadas. Aos 14 e 16 meses, foi observado maior porcentagem de células de Sertoli, seguidas de espermátides alongadas. Aos 18 meses, houve diminuição na porcentagem de células de Sertoli, acompanhada pelo aumento na porcentagem de espermátides alongadas e espermatozoides presentes no aspirado celular. Esses resultados corroboram com relatados em equinos (Leme and Papa, 2010, 2000), felinos (Leme et al., 2018) e bovinos (Bastos et al., 2016), nos quais foi observada maior proporção de espermátides em animais adultos. A concentração de espermátides na citologia aspirativa tem sido associada ao potencial de espermatogênese nos túbulos seminíferos (Garolla et al., 2014). Isso demonstra que a punção aspirativa por agulha fina pode ser uma técnica valiosa para caracterizar o estágio de desenvolvimento sexual em touros jovens, permitindo a diferenciação entre animais imaturos e púberes.

Na avaliação histológica, não foram encontradas diferenças entre as linhas de seleção, o que indica que, aos 18 meses, ambos estavam no mesmo período de desenvolvimento sexual. Esse resultado não justifica a maior ecogenicidade observada na linha NeS em comparação com a linha NeC. Isso reforça e confirma a dificuldade de relacionar a ultrassonografia com a histologia do parênquima testicular, como já relatado por Brito et al. (2012).

De maneira geral, a seleção para maior peso pós desmama não influenciou no desenvolvimento sexual nem o potencial reprodutivo dos touros jovens Nelore. De forma similar, Monteiro et al. (2013), ao estudarem o desenvolvimento sexual de fêmeas da raça Nelore selecionadas com os mesmos critérios, não observaram diferenças no desenvolvimento ovariano ou endometrial entre as linhas de seleção NeC e NeS. Esses achados reforçam a ideia de que o melhoramento genético voltados para essas características produtivas pode ser realizado sem impactos

negativos nos parâmetros reprodutivos, uma vez que o robusto programa de seleção foi capaz de gerar animais mais pesados sem comprometer as características sexuais.

5. CONCLUSÃO

A seleção para maior peso pós-desmama na raça Nelore não compromete negativamente os parâmetros do sistema reprodutivo dos machos jovens, e ainda favorece o aumento de características biométricas testiculares. A seleção também não acarreta prejuízos no desenvolvimento reprodutivo, nem na idade à puberdade ou à maturidade sexual. Por outro lado, com o aumento da idade dos animais há aumento das características biométricas testiculares e velocidades do fluxo sanguíneo do plexo pampiniforme. A idade também afeta os parâmetros ecogênicos testiculares, com aumento até 18 meses de idade, seguido de leve queda e estabilização.

REFERÊNCIAS

Ahmadi, B., Mirshahi, A., Giffin, J., Oliveira, M.E.F., Gao, L., Hahnel, A., Bartlewski, P.M. (2013). Preliminary assessment of the quantitative relationships between testicular tissue composition and ultrasonographic image attributes in the ram. **The Veterinary Journal**, 198, 282-285.

Bailey, T.L., Hudson, R.S., Powe, T.A., Riddell, M.G., Wolfe, D.F., Carson, R.L., (1998). Caliper and ultrasonographic measurements of bovine testicles and a mathematical formula for determining testicular volume and weight in vivo. **Theriogenology** 49, 581–594. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(98\)00009-0](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(98)00009-0)

Barca Júnior, F.A., Koetz Júnior, C., Fávaro, P. da C., Pereira, G.R., Morotti, F., Menegassi, S.R.O., Barcellos, J.O.J., Seneda, M.M., (2018). Effect of breed on testicular blood flow dynamics in bulls. **Theriogenology** 118, 16–21.

Barth, A.D., (2018). Review: The use of bull breeding soundness evaluation to identify subfertile and infertile bulls. **Animal** 12, s158–s164. <https://doi.org/10.1017/S1751731118000538>

Bastos, Y.H.G.B., Ferreira, C.S., Gomes, G.M., Júnior, K.D.C.P., Gomes, L.P. de M., Papa, F.O., Crespilho, A.M., (2016). Avaliação de diferentes técnicas de coloração para esfregaços obtidos por punção biópsia aspirativa testicular de bovinos. **Revista de Saúde** 6, 05. <https://doi.org/10.21727/rs.v6i2.48>

Bastos, Y.H.G.B., Silva, C.F. da, Gomes, G.M., Peixoto Júnior, K.D.C., Gomes, L.P. de M., Papa, F.O., Crespiho, A.M., (2015). Avaliação de diferentes técnicas de coloração para esfregaços obtidos por punção biópsia aspirativa testicular de bovinos. **Revista de Saúde** 6, 05. <https://doi.org/10.21727/rs.v6i2.961>

Benfica, L.F., Brito, L.F., do Bem, R.D., de Oliveira, L.F., Mulim, H.A., Braga, L.G., Cyrillo, J.N.S.G., Bonilha, S.F.M., Mercadante, M.E.Z., (2024). Detection and characterization of copy number variation in three differentially-selected Nellore cattle populations. **Front Genet** 15. <https://doi.org/10.3389/fgene.2024.1377130>

Blom E, (1973). The ultrastructure of some characteristic sperm defects and a proposal for a new classification of the bull spermogram. **Nord Vet Med** 25, 383–91.

Boligon, A.A., Silva, J.A. V., Sesana, R.C., Sesana, J.C., Junqueira, J.B., Albuquerque, L.G., (2010). Estimation of genetic parameters for body weights, scrotal circumference, and testicular volume measured at different ages in Nellore cattle1. **J Anim Sci** 88, 1215–1219. <https://doi.org/10.2527/jas.2008-1719>

Bourgon, S.L., Diel de Amorim, M., Chenier, T., Sargolzaei, M., Miller, S.P., Martell, J.E., Montanholi, Y.R., (2018). Relationships of nutritional plane and feed efficiency with sexual development and fertility related measures in young beef bulls. **Anim Reprod Sci** 198, 99–111. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.09.007>

Brito, LFC, (2024). Nutrition and Sexual Development in Bulls. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice** 40, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2023.08.002>

Brito, L.F.C., Barth, A.D., Rawlings, N.C., Wilde, R.E., Crews, D.H., Mir, P.S., Kastelic, J.P., (2007). Effect of nutrition during calthood and peripubertal period on serum metabolic hormones, gonadotropins and testosterone concentrations, and on sexual development in bulls. **Domest Anim Endocrinol** 33, 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2006.04.001>

Brito, L.F.C., Barth, A.D., Rawlings, N.C., Wilde, R.E., Crews, D.H., Mir, P.S., Kastelic, J.P., (2007). Circulating metabolic hormones during the peripubertal period and their association with testicular development in bulls. **Reproduction in Domestic Animals** 42, 502–508. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2006.00813.x>

Brito, L.F.C., Barth, A.D., Wilde, R.E., Kastelic, J.P., (2012). Testicular ultrasonogram pixel intensity during sexual development and its relationship with semen quality, sperm production, and quantitative testicular histology in beef bulls. **Theriogenology** 78, 69–76. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.01.022>

Brito, L.F.C., Silva, A.E.D.F., Unanian, M.M., Dode, M.A.N., Barbosa, R.T., Kastelic, J.P., (2004). Sexual development in early- and late-maturing *Bos indicus* and *Bos indicus* x *Bos taurus* crossbred bulls in Brazil. **Theriogenology** 62, 1198–1217. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.01.006>

Burrow, H.M., (2001). Variances and covariances between productive and adaptive traits and temperament in a composite breed of tropical beef cattle. **Livest Prod Sci** 70, 213–233. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(01\)00178-6](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(01)00178-6)

Carvalho, F.E., Ferraz, J.B.S., Pedrosa, V.B., Matos, E.C., Eler, J.P., Silva, M.R., Guimarães, J.D., Bussiman, F.O., Silva, B.C.A., Cançado, F.A., Mulim, H.A., Espigolan, R., Brito, L.F., (2023). Genetic parameters for various semen production and quality traits and indicators of male and female reproductive performance in Nellore cattle. **BMC Genomics** 24. <https://doi.org/10.1186/s12864-023-09216-5>

CBRA, 2013. Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal, 3rd ed. Belo Horizonte.

Corbet, N.J., Burns, B.M., Johnston, D.J., Wolcott, M.L., Corbet, D.H., Venus, B.K., Li, Y., McGowan, M.R., Holroyd, R.G., (2013). Male traits and herd reproductive capability in tropical beef cattle. 2. Genetic parameters of bull traits. **Anim Prod Sci** 53, 101–113. <https://doi.org/10.1071/AN12163>

Crespilho, A.M., Ferreira, C.S., Bastos, Y.H.G.B., Guasti, P.N., Nascimento, J.C., de Oliveira Pimenta Guimarães, K., Agopian, R.G., Gomes, G.M., da Cunha Peixoto, K., (2019). Testicular needle aspiration: Is it a safe method for breeding soundness evaluation in bulls? **Anim Reprod** 16, 880–886. <https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR2019-0007>

Engelken, T.J., (2008). The development of beef breeding bulls. **Theriogenology** 70, 573–575. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.05.038>

Feliciano, M.A.R., Vicente, W.R.R., Silva, M.A.M., (2012). Conventional and Doppler ultrasound for the differentiation of benign and malignant canine mammary tumours. **Journal of Small Animal Practice** 53, 332–337. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2012.01227.x>

Fernandes, L.G., Borges, M.S.A., de Oliveira Silva, M., Rodrigues, N.N., Vicentini, R.R., Crespilho, A.M., Mercadante, M.E.Z., Monteiro, F.M., (2022). Use of auxiliary techniques for assessing the reproductive capacity of natural service Nellore bulls. **Anim Reprod Sci** 247. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2022.107090>

Garolla, A., Selice, R., Engl, B., Bertoldo, A., Menegazzo, M., Finos, L., Lenzi, A., Foresta, C., (2014). Spermatid count as a predictor of response to FSH therapy. **Reprod Biomed Online** 29, 102–112. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2014.02.014>

Giffin, J.L., Franks, S.E., Rodriguez-Sosa, J.R., Hahnel, A., Bartlewski, P.M., (2009). A Study of Morphological and Haemodynamic Determinants of Testicular Echotexture Characteristics in the Ram. **Exp Biol Med** 234, 794–801. <https://doi.org/10.3181/0812-RM-364>

Hay, E.H., Roberts, A., (2018). Genotype × prenatal and post-weaning nutritional environment interaction in a composite beef cattle breed using reaction norms and a multi-trait model. **J Anim Sci** 96, 444–453. <https://doi.org/10.1093/jas/skx057>

Kastelic, J.P., (2014). Understanding and evaluating bovine testes. **Theriogenology**. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.09.001>

Kastelic, J.P., Rizzoto, G., Thundathil, J., (2018). Review: Testicular vascular cone development and its association with scrotal thermoregulation, semen quality and sperm production in bulls. **Animal**. <https://doi.org/10.1017/S1751731118001167>

Leme, D.P., Papa, F.O., (2000). Cytological identification and quantification of testicular cell types using fine needle aspiration in horses. **Equine Vet J** 32, 444–446. <https://doi.org/10.2746/042516400777591156>

Leme, D.P., Papa, F.O., (2010). How to Perform and Interpret Testicular Fine Needle Aspiration in Stallions. **J Equine Vet Sci** 30, 590–596. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2010.09.003>

Leme, D.P., Visacre, E., Castro, V.B., Lopes, M.D., (2018). Testicular cytology by fine needle aspiration in domestic cats. **Theriogenology** 106, 46–52. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.10.012>

Lirón, J.P., Prando, A.J., Fernández, M.E., Ripoli, M. V., Rogberg-Muñoz, A., Goszczynski, D.E., Posik, D.M., Peral-García, P., Baldo, A., Giovambattista, G., (2012). Association between GNRHR, LHR and IGF1 polymorphisms and timing of puberty in male Angus cattle. **BMC Genet** 13. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-13-26>

Makarechian, M., Farid, A., Berg, R.T., (1984). Relationships between growth parameters and scrotal circumference in young beef bulls. **Theriogenology** 22, 667–674. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(84\)90496-5](https://doi.org/10.1016/0093-691X(84)90496-5)

Mercadante, M.E.Z., Packer, I.U., Razook, A.G., Cyrillo, J.N.S.G., Figueiredo, L.A., (2003). Direct and correlated responses to selection for yearling weight on reproductive performance of Nelore cows. **J Anim Sci** 81, 376–384. <https://doi.org/10.2527/2003.812376x>

Monteiro, F.M., Mercadante, M.E.Z., Barros, C.M., Satrapa, R.A., Silva, J.A.V., Oliveira, L.Z., Saraiva, N.Z., Oliveira, C.S., Garcia, J.M., (2013). Reproductive tract development and puberty in two lines of Nelore heifers selected for postweaning weight. **Theriogenology** 80, 10–17. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.02.013>

Rodrigues, N.N., Rossi, G.F., Vrisman, D.P., Taira, A.R., Souza, L.L., Zorzetto, M.F., Bastos, N.M., de Paz, C.C.P., de Lima, V.F.M.H., Monteiro, F.M., Franco Oliveira, M.E., 2020. Ultrasonographic characteristics of the testes, epididymis and accessory sex glands and arterial spectral indices in peri- and post-pubertal Nelore and Caracu bulls. **Anim Reprod Sci** 212. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.106235>

Silva, B.C.A., Eler, J.P., Santana, M.L., Mattos, E.C., Menezes, I.R., Ferraz, J.B.S., (2018). Genetic association between mature weight and early growth and heifer pregnancy traits in Nelore cattle. **Livest Sci** 211, 61–65. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2018.03.003>

Siqueira, J., Guimarães, J., Pinho, R., (2013). Relação entre perímetro escrotal e características produtivas e reprodutivas em bovinos de corte: uma revisão. **Revista Brasileira de Reprodução Animal** 37, 3–13.

Strina, A., Corda, A., Nieddu, S., Solinas, G., Lilliu, M., Zedda, M.T., Pau, S., Ledda, S., (2016). Annual variations in resistive index (RI) of testicular artery, volume measurements and testosterone levels in bucks. **Comp Clin Path** 25, 409–413. <https://doi.org/10.1007/s00580-015-2199-4>

Tomlinson, M., Jennings, A., Macrae, A., Truysers, I., (2017). The value of trans-scrotal ultrasonography at bull breeding soundness evaluation (BBSE): The relationship between testicular parenchymal pixel intensity and semen quality. **Theriogenology**, 89, 169–177. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.10.020>

Wolf, F.R., Almquist, J.O., Hale, E.B., (1965). Prepuberal Behavior and Puberal Characteristics of Beef Bulls on High Nutrient Allowance. **J Anim Sci** 24, 761–765. <https://doi.org/10.2527/jas1965.243761x>

Wood, M.M., Romine, L.E., Lee, Y.K., Richman, K.M., O'Boyle, M.K., Paz, D.A., Chu, P.K., Pretorius, D.H., (2010). Spectral Doppler Signature Waveforms in Ultrasonography. **Ultrasound Q** 26, 83–99.
<https://doi.org/10.1097/RUQ.0b013e3181dcbf67>

CAPÍTULO 3 – COMPARAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO REPRODUTIVO ENTRE TOUROS JOVENS *BOS INDICUS* E *BOS TAURUS* ADAPTADOS AO CLIMA TROPICAL

Resumo - Selecionar animais adaptados ao clima da região de produção é uma maneira eficaz para garantir maior eficiência produtiva. Diante disso, o objetivo do trabalho foi comparar o desenvolvimento sexual de touros *Bos indicus* e *Bos taurus* adaptado ao clima tropical. Foram utilizados 44 touros da raça Nelore (Ne) e 41 touros da raça Caracu (Ca) com idade inicial de $14 \pm 0,7$ meses. As mensurações de biometria testicular, ultrassonografia testicular, doppler do plexo pampiniforme, avaliação seminal e punção aspirativa foram realizadas com intervalo médio de $58,4 \pm 8,5$ dias, totalizando 6 avaliações. Aos 18 meses de idade, 10 touros de cada raça, foram castrados e tiveram seus testículos coletados para análise histológica. Os resultados foram submetidos à análise de variância considerando medidas repetidas no tempo. Touros Ne apresentaram menores médias de perímetro escrotal (PE, $P < 0,0001$), volume testicular ($P < 0,0001$), velocidade do pico sistólico (PS, $P < 0,0001$) e diastólico (ED, $P < 0,0001$) em relação aos touros Ca. Nos índices de resistência vascular (IR, $P < 0,0001$) e pulsatilidade (IP, $P < 0,0001$), os touros Ne apresentaram maiores médias que os touros Ca. Entretanto, Touros Ca apresentaram maior concentração espermática ($P = 0,01$), motilidade total (MT, $P = 0,003$) e progressiva (MP, $P = 0,002$), e maiores porcentagens de defeitos maiores ($P = 0,0007$), menores ($P = 0,04$) e totais ($P < 0,0001$) que touros Ne. Na avaliação citológica a raça Ne apresentou menor quantidade de espermátides alongadas ($P = 0,03$) e espermatozoides ($P = 0,01$), bem como maior quantidade de células de Sertoli ($P = 0,02$) em comparação à raça Ca independente da rotina. De modo geral, as variáveis de biometria testicular, vasculares e seminais foram influenciadas pela idade dos touros, independente da raça. Em conclusão, touros Ne apresentam desenvolvimento sexual mais tardio em comparação aos touros Ca. Apesar da raça Ca demonstrar boa adaptabilidade ao clima tropical sem efeitos adversos, os touros Nelore exibem parâmetros vasculares do plexo pampiniforme que podem sugerir melhor termorregulação.

Palavras-chave: Puberdade; histologia testicular; ultrassom; sistema CASA; punção aspirativa por agulha fina.

Abstract - Selecting animals adapted to the climate of the production region is an effective way to ensure greater production efficiency in livestock farming. Given this, the objective of this study was to compare the sexual development of *Bos indicus* and *Bos taurus* young bulls adapted to tropical climates. Forty-four Nelore (Ne) and 41 Caracu (Ca) young bulls with an initial age of 14 ± 0.7 months were used in this study. Testicular biometry measurements, testicular ultrasonography, pampiniform plexus Doppler, seminal evaluation, and aspirative puncture were performed at an average interval of 58.4 ± 8.5 days, for a total of six evaluations. At 18 months of age, 10 young bulls of each breed were castrated, and their testicles were collected for histological analysis. The results were subjected to analysis of variance considering repeated measures over time. Ne bulls had lower mean scrotal circumference (SC, $P < 0.0001$), testicular volume ($P < 0.0001$), systolic peak velocity (SPV, $P < 0.0001$), and diastolic velocity (DV, $P < 0.0001$) than Ca young bulls. In vascular resistance (IR, $P < 0.0001$) and pulsatility (IP, $P < 0.0001$) indices, Ne young bulls had higher mean values than Ca young bulls. However, Ca young bulls had higher sperm concentration ($P = 0.01$), total motility (TM, $P = 0.003$), and progressive (MP, $P = 0.002$), and higher percentages of major defects ($P = 0.0007$), minor defects ($P = 0.04$), and total defects ($P < 0.0001$) than Ne young bulls. In the cytological evaluation, the Ne young bulls had a lower number of elongated spermatids ($P = 0.03$) and spermatozoa ($P = 0.01$), as well as a higher number of Sertoli cells ($P = 0.02$) than the Ca young bulls, regardless of the routine. In general, testicular, vascular, and seminal biometric variables were influenced by young bull age, regardless of breed. In conclusion, Ne bulls showed later sexual development than Ca bulls. Although Ca bulls show good adaptability to the tropical climate without adverse effects, Nelore bulls exhibit vascular parameters of the pampiniform plexus that may suggest better thermoregulation.

Keywords: Puberty, testicular histology, ultrasound, CASA system, fine-needle aspiration.

1. INTRODUÇÃO

Estudar e comparar os parâmetros reprodutivos entre raças zebuínas e taurinas é fundamental para entender as diferenças adaptativas e fisiológicas que influenciam a eficiência reprodutiva e a produtividade na pecuária. Essas informações são cruciais para o desenvolvimento de estratégias sustentáveis que otimizem a produtividade em diferentes condições ambientais e atendam às demandas globais. A eficiência reprodutiva desempenha papel fundamental na sustentabilidade e na produtividade da pecuária bovina, especialmente em regiões tropicais, onde os desafios ambientais, como altas temperaturas e maior pressão parasitária, podem impactar significativamente o desempenho reprodutivo dos animais (Mirkena et al., 2010).

Bovinos das subespécies *Bos indicus* e *Bos taurus* apresentam diferenças marcantes em relação à fisiologia reprodutiva, adaptabilidade e desempenho produtivo. De modo geral, taurinos apresentam maior precocidade tanto produtiva quanto reprodutiva (Brito et al., 2004a), entretanto há desafios na utilização de raças taurinas em ambientes tropicais ou subtropicais devido sua baixa resistência à estresse térmico e parasitas (Abduch et al., 2024; Sejian et al., 2018). Observando, ainda, as mudanças climáticas globais, o aumento de temperatura pode alterar a produção de carne bovina tanto antes quanto após o abate (Warner et al., 2010; Angel et al., 2018). Os efeitos das mudanças climáticas podem ser parcialmente mitigados em raças locais e adaptadas, estas que apresentam maior facilidade de crescimento em condições adversas e quentes (Colombi et al., 2024).

Enquanto os zebuínos (*Bos indicus*), como o Nelore, são amplamente reconhecidos por sua elevada resistência ao calor e a parasitas, características que favorecem sua utilização em climas tropicais (Lima et al., 2020), os taurinos adaptados, como o Caracu (*Bos taurus*), combinam atributos de produção com adaptabilidade a essas condições adversas (Abduch et al., 2024, 2022; Lima et al., 2020). No entanto, diferenças no desenvolvimento e na funcionalidade do sistema reprodutivo masculino entre essas raças ainda não foram completamente descritas, especialmente em relação às adaptações fisiológicas e morfológicas ao ambiente tropical.

Técnicas para avaliação reprodutiva, como a ultrassonografia testicular, incluindo a avaliação Doppler do fluxo sanguíneo (Kastelic, 2014), análises de qualidade seminal com o sistema CASA (Computer-Assisted Sperm Analysis) (AMANN; WABERSKI, 2014) e estudos histológicos (Aponte et al., 2005; Rohländer et al., 2020), têm permitido uma compreensão mais detalhada do desenvolvimento sexual em bovinos. Essas ferramentas oferecem informações essenciais sobre a espermatogênese, vascularização testicular e maturação sexual, possibilitando a identificação de diferenças interraciais que podem influenciar diretamente o manejo reprodutivo e os programas de seleção genética.

O presente estudo teve como objetivo avaliar e comparar o desenvolvimento sexual de touros *Bos indicus* e *Bos taurus* adaptado ao clima tropical, utilizando avaliações ultrassonográficas testiculares, parâmetros de qualidade seminal e análises histológicas testiculares.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O projeto experimental foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Instituto de Zootecnia do Estado de São Paulo, que está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) (Protocolo nº 343-2022).

2.1. Animais

Foram utilizados touros das raças Nelore (Ne) e Caracu (Ca) pertencentes ao Centro Avançado de Pesquisa de Bovinos de Corte - Instituto de Zootecnia, Sertãozinho/SP (21°10' de latitude sul e 48°5' de longitude oeste). O clima é tropical úmido com uma estação chuvosa de outubro a março, recebendo 80,5% da precipitação total (1.485 mm), e uma estação seca de abril a setembro, com uma precipitação de 359 mm. Ambas as raças são selecionadas com base em maior peso pós-desmama dentro de grupo contemporâneo, sendo este peso obtido em teste de desempenho em confinamento e ajustado para 378 dias de idade (Benfica et al., 2024; Mercadante et al., 2003).

Neste estudo foram realizadas duas replicatas, a primeira no ano de 2022 e a segunda no ano de 2023. O estudo incluiu 85 touros, distribuídos em duas replicatas. Na primeira, foram avaliados 19 touros Nelore (Ne) com idade inicial de $13,9 \pm 0,7$ meses e peso inicial de 388 ± 35 kg, e 21 touros Caracu (Ca) com idade inicial de $14,1 \pm 0,7$ meses e peso inicial de 392 ± 37 kg. Na segunda replicata, participaram 25 touros Ne ($13,8 \pm 0,8$ meses; 351 ± 46 kg) e 20 touros Ca ($14,2 \pm 0,6$ meses; 371 ± 29 kg). Durante o período experimental, os touros foram mantidos em pastagem de capim braquiária (*Brachiaria brizantha*) com livre acesso à água e sal proteinado.

Os touros foram avaliados seis vezes de 14 a 24 meses de idade, com intervalo médio de $58,4 \pm 8,5$ dias entre as avaliações. Em cada avaliação foram realizadas medidas de biometria testicular, ultrassonografia em modo B e doppler, e avaliação da qualidade seminal.

O perímetro escrotal foi mensurado com auxílio de uma fita milimetrada. As medidas de comprimento e larguras de cada testículo foram obtidas com auxílio de paquímetro. O volume testicular foi calculado de acordo com descrito por Bailey et al. (1998): $\text{volume} = 0,5236 \times \text{comprimento} \times \text{largura}^2$.

2.2. Ultrassonografia testicular

Os exames ultrassonográficos testiculares foram conduzidos com aparelho de ultrassom modelo Z5 Vet (Mindray, Shenzhen, China), acoplado a transdutor linear de 7,5Mhz. As varreduras foram realizadas nos planos longitudinal e transversal dos testículos direito e esquerdo. As imagens obtidas foram analisadas utilizando o software Image Pro Plus (Media Cybernetics Inc., San Diego, CA, USA). Os valores de pixel foram avaliados em escala de cinza de 0 (preto absoluto) a 255 (branco absoluto) (Giffin et al., 2009). Foi utilizada a metodologia descrita por Tomlinson et al., (2017); assim, para as imagens longitudinais, aplicaram-se seis círculos de mesmo tamanho, três localizados acima e três abaixo do mediastino testicular. Nas imagens transversais, quatro círculos foram utilizados, sendo dois nas diagonais superiores e dois nas diagonais inferiores em relação ao mediastino. A ecogenicidade foi determinada pela média da intensidade de pixels dos pontos avaliados, enquanto a

heterogeneidade foi calculada com base no desvio padrão médio dos valores da intensidade de pixels.

Adicionalmente, exames com ultrassom doppler foram realizados para determinar o diâmetro da artéria testicular na região do cordão espermático, empregando a função caliper do ultrassom. O transdutor foi posicionado no centro da luz do vaso de forma que cobrisse pelo menos 2/3 do seu diâmetro, com ângulo de insonação inferior a 60°. A curva espectral do fluxo sanguíneo foi gravada, e os índices vasculares foram calculados conforme metodologia descrita por Rodrigues et al. (2020). O doppler espectral foi utilizado para avaliar os índices vasculares com base em, no mínimo, três ondas. Os parâmetros avaliados incluíram: velocidade do pico sistólico (PS), velocidade diastólica final (ED), índices de resistência vascular $[RI = (PS - ED) / PS]$ e de pulsatilidade $[PI = (PS - ED) / M]$, em que M representa a média de PS e ED] (Feliciano et al., 2012; Wood et al., 2010).

2.3. Avaliação de sêmen

As amostras de sêmen foram coletadas com os touros jovens contidos em tronco de contenção, utilizando eletroejaculador (Autojac®, Neovet®, Uberaba, Minas Gerais, Brasil). Um ciclo automático previamente programado pelo fabricante foi empregado para todos os touros em todas as avaliações. Após colheita da amostra, a concentração ($\times 10^6$ espermatozoides/mL) foi determinado por fotômetro (SDM1, Minitub®, Berlin, Alemanha), calibrado para sêmen bovino.

A cinética espermática do sêmen foi analisada pelo sistema de Análise Computadorizada do Movimento Espermático (CASA; Hamilton Thorne Research, IVOS-14, EUA). Para tal, 10 μ L da amostra foi depositada em câmara de Makler (Makler Counting Chamber®, Sefi-Medical Instruments Ltda®, Haifa, Israel), previamente aquecida a 38°C. Cinco campos aleatórios foram avaliados, analisando-se no mínimo 150 espermatozoides por campo. A configuração foi ajustada para o sêmen bovino (número de quadros: 30; contraste mínimo: 60 pixels; tamanho mínimo da célula: 6 pixels; retidão: 70%; velocidade de corte média do trajeto: 30 μ m/s; velocidade do trajeto médio mínimo: 40 μ m/s; corte de velocidade em linha reta: 20 μ m/s; intensidade da cabeça não móvel: 90; tamanho da cabeça não móvel: 5 pixels; ampliação: X 1,95; temperatura: 38°C). Os seguintes parâmetros cinéticos

espermáticos foram utilizados: motilidade total (MT, %), motilidade progressiva (MP, %), porcentagem de espermatozoides rápidos (RAP, %), velocidade média do trajeto (VAP, $\mu\text{m/s}$), velocidade em linha reta (VSL, $\mu\text{m/s}$), velocidade curvilínea (VCL, $\mu\text{m/s}$), amplitude de deslocamento lateral da cabeça (ALH, μm), frequência de batimento cruzado (BCF, Hz), retidão (STR, %) e linearidade (LIN, %).

Para análise da morfologia espermática, cada alíquota de sêmen foi diluída em solução de formol salina 4% e avaliada sob microscopia de contraste de interferência diferencial (DIC). Após a montagem da amostra entre lâmina e lamínula, 200 células foram contadas por amostra sob microscopia em imersão de 100x (Nikon, NiU, Japan), conforme recomendação do CBRA (2013). As alterações morfológicas foram classificadas em defeitos maiores, menores e totais.

A puberdade foi definida pelo primeiro ejaculado com concentração mínima de 50×10^6 de espermatozoides e 10% de motilidade total (Wolf et al., 1965). A maturidade sexual foi caracterizada pelo primeiro ejaculado contendo o mínimo de 30% de motilidade e 70% de espermatozoides normais (Brito et al., 2004a).

2.4. Punção aspirativa testicular

O testículo direito de cinco touros de cada raça (Ne e Ca) foi puncionado em cada ano experimental, totalizando 20 touros. As punções aspirativas foram realizadas nas primeiras três avaliações, posteriormente os touros foram castrados. Para isso, a metodologia descrita por Crespilho et al. (2019) foi aplicada. A agulha hipodérmica (22G, 25x7mm) foi conectada em seringa de 20mL. Após a antisepsia com solução de iodopovidona (Riodeine® 0,5; Rioquímica, São José do Rio Preto – SP, Brasil), a punção foi realizada perpendicular ao eixo longitudinal do testículo direito, na região central. Com a agulha totalmente inserida, o êmbolo da seringa foi puxado para gerar vácuo, e a agulha foi movimentada três vezes para fora e para dentro (sem retirar a agulha do testículo), para promover o deslocamento celular. O material coletado foi adicionado em lâmina, posteriormente foi realizado o esfregaço com auxílio de uma segunda lâmina, em seguida as lâminas foram coradas com panótico rápido (Laborclin®, Pinhais – PR, Brasil) conforme recomendação do fabricante.

Foram contadas 200 células da linhagem espermatogênica, adaptada à metodologia de Bastos et al. (2015), sendo avaliadas espermatogônias,

espermátocitos, espermátides, espermátides alongadas, espermatozoides e células de Sertoli.

2.5. Histologia testicular

A castração foi realizada quando os touros submetidos à punção atingiram em média $18 \pm 0,7$ meses. A técnica de castração seguiu a metodologia descrita por Crespilho et al. (2019). Após a castração os testículos foram identificados e higienizados com solução estéril de cloreto de sódio 0,9%. Os testículos foram seccionados longitudinalmente na região central e, em seguida, fixados e armazenados em formol salino a 10% até o processamento. Para o processamento histológico, as amostras foram seccionadas em fragmentos de 4mm e imersas em etanol 70% por 48 horas. Os fragmentos foram incluídos em parafina, cortados a cada 4 microns de espessura e corados com hematoxilina e eosina.

Os túbulos seminíferos foram avaliados em microscopia de luz com ampliação de 200x para a determinação da espessura de parede tubular, diâmetro do lúmen e diâmetro total dos túbulos seminíferos; sendo que dez campos aleatórios foram analisados. Para essa análise, foi utilizado o software NIS-Elements (v4.0, Nikon Corporation, Japão). Além disso, em outros dez campos aleatórios com ampliação de 40x, foi contabilizado o número de túbulos seminíferos cortados transversalmente.

2.6. Análise estatística

Para avaliação estatística, foram consideradas as médias dos testículos direito e esquerdo para as variáveis de biometria testicular (comprimento, largura e volume testicular), ultrassonografia modo B e doppler (diâmetro da artéria testicular, VPS, VPD, IP, IR, ecogenicidade e heterogeneidade) e histologia testicular (diâmetro tubular, espessura de parede tubular e diâmetro do lúmen). Foi calculada a taxa de desenvolvimento testicular com base no crescimento do perímetro escrotal ao longo das avaliações, bem como a taxa de crescimento total que foi considerada a diferença entre a primeira e a última avaliação. Foi calculada a proporção do diâmetro do lúmen e da espessura da parede em relação ao diâmetro total do túbulo seminífero.

Os resultados foram submetidos à análise de variância considerando medidas repetidas com auxílio do programa “Statistical Analysis System” (SAS®, 9.4 version), utilizando-se o procedimento PROC GLIMMIX. Foi ajustado o seguinte modelo estatístico: $y = \mu + \text{ano} + \text{idade} + \text{raça} + \text{idade} \times \text{raça} + \varepsilon$, em que, y : variável resposta; μ : média geral; ano: efeito da safra de touros de cada ano experimental (1, 2); idade: efeito da classe idade (em meses) em cada avaliação (14, ..., 24); raça: efeito da raça do animal (Nelore e Caracu), idade x raça: efeito da interação idade x raça, ε : erro aleatório associado a cada observação. A (co)variância residual foi modelada considerando a melhor estrutura de (co)variâncias de acordo com o critério de informação de Akaike. As médias foram ajustadas pelo método dos quadrados mínimos (“LSMEANS”) e foram comparadas, quando necessário, por meio da probabilidade da diferença (“PDIF”), usando o teste “t”. Foi utilizado o teste Qui-quadrado para comparar o estado de desenvolvimento sexual de acordo com a idade. A significância estatística foi declarada quando $P < 0,05$.

3. RESULTADOS

3.1. Biometria testicular

Todas as variáveis de biometria testicular aumentaram ao longo do tempo ($P < 0,0001$) em função do avanço da idade dos touros, independentemente da raça (Tabela 1). As variáveis perímetro escrotal ($P < 0,0001$), comprimento ($P < 0,0001$), largura ($P < 0,0001$) e volume testicular ($P < 0,0001$) foram menores nos touros da raça Ne em comparação aos da raça Ca, tanto na análise por raça ($P < 0,0001$) quanto por idade ($P < 0,001$). No entanto, a taxa de desenvolvimento testicular, considerando tanto a idade ($P < 0,0001$) quanto o desenvolvimento total ($P = 0,0002$), foi superior nos touros Ne em relação aos Ca.

Tabela 1 – Médias estimadas da biometria testicular (média ± EP) por idade dos touros das raças Nelore (Ne) e Caracu (Ca)

	Idade (meses)						Média
	14	16	18	20	22	24	
Ne	(n = 44)	(n = 43)	(n = 42)	(n = 38)	(n = 36)	(n = 13)	
PE (cm)	25,2 ± 0,3 ^{Bf}	26,3 ± 0,3 ^{Be}	27,9 ± 0,3 ^{Bd}	29,3 ± 0,3 ^{Bc}	32,8 ± 0,3 ^{Bb}	33,8 ± 0,4 ^{Ba}	29,2 ± 0,3 ^B
Comprimento (cm)	8,1 ± 0,1 ^{Bd}	9,2 ± 0,1 ^{Bc}	9,5 ± 0,1 ^{Bbc}	9,8 ± 0,1 ^{Bb}	11,1 ± 0,2 ^{Ba}	11,4 ± 0,3 ^{Ba}	9,8 ± 0,1 ^B
Largura (cm)	4,8 ± 0,0 ^{Be}	5,1 ± 0,1 ^{Bd}	5,4 ± 0,1 ^{Bc}	5,7 ± 0,09 ^{Bb}	6,5 ± 0,1 ^{Ba}	6,6 ± 0,1 ^{Ba}	5,7 ± 0,1 ^B
Volume (cm ³)	105,1 ± 7,2 ^{Bd}	136,5 ± 7,5 ^{Bc}	155,0 ± 6,9 ^{Bb}	178,2 ± 7,9 ^{Bb}	249,1 ± 9,3 ^{Ba}	254,7 ± 16,3 ^{Ba}	179,7 ± 6,7 ^B
Desenvolvimento Testicular (%)	-	4,6 ± 0,5 ^{Ac}	6,0 ± 0,5 ^{Ab}	5,2 ± 0,6 ^{Abc}	12,8 ± 0,6 ^{Aa}	3,0 ± 1,2 ^{Ad}	34,9 ± 3,1 ^A
Ca	(n = 44)	(n = 43)	(n = 42)	(n = 38)	(n = 36)	(n = 13)	
PE (cm)	31,5 ± 0,3 ^{Ae}	32,2 ± 0,3 ^{Ac}	33,1 ± 0,3 ^{Ad}	33,6 ± 0,37 ^{Ac}	36,4 ± 0,3 ^{Ab}	37,1 ± 0,4 ^{Aa}	34,01 ± 0,3 ^A
Comprimento (cm)	10,3 ± 0,1 ^{Ad}	11,2 ± 0,6 ^{Ac}	10,7 ± 0,1 ^{Ac}	11,2 ± 0,18 ^{Ab}	11,9 ± 0,1 ^{Ab}	12,5 ± 0,3 ^{Aa}	11,32 ± 0,1 ^A
Largura (cm)	6,1 ± 0,1 ^{Ad}	6,1 ± 0,1 ^{Ad}	6,3 ± 0,1 ^{Ac}	6,6 ± 0,09 ^{Ab}	7,1 ± 0,1 ^{Aa}	7,34 ± 0,2 ^{Aa}	6,63 ± 0,1 ^A
Volume (cm ³)	212,0 ± 7,2 ^{Ae}	236,0 ± 7,6 ^{Ad}	228,7 ± 6,9 ^{Ad}	255,6 ± 7,81 ^{Ac}	311,8 ± 9,9 ^{Ab}	352,4 ± 16,5 ^{Aa}	266,13 ± 6,7 ^A
Desenvolvimento Testicular (%)	-	2,3 ± 0,5 ^{Bc}	2,9 ± 0,5 ^{Bb}	1,7 ± 0,65 ^{Bd}	8,1 ± 0,6 ^{Ba}	2,4 ± 1,1 ^{Bbc}	15,9 ± 2,5 ^B

Letras maiúsculas sobrescritas representam diferença significativa entre as raças dentro da mesma idade (P<0,05). Letras minúsculas sobrescritas representam diferença significativa do rebanho entre as idades (P<0,05). PE: perímetro escrotal; Desenvolvimento Testicular: Taxa de crescimento testicular com base no perímetro escrotal.

3.2. Ultrassonografia

Na avaliação ultrassonográfica (Tabela 2), foi observado menor diâmetro da artéria testicular ($P<0,03$) nos touros Ne quando comparados com os Ca. De 14 a 18 meses de idade, os touros Ne apresentaram menor diâmetro da artéria testicular que os Ca, sendo que dos 20 aos 24 meses essa diferença não foi observada. Dos 14 aos 22 meses foi observado crescimento do diâmetro da artéria testicular e estabilização dos 22 aos 24 meses.

De modo geral, foi observado aumento do fluxo sanguíneo medido por PS ($P<0,0001$) e ED ($P<0,0001$) com o aumento das idades, sendo que até os 20 meses os touros Ne apresentaram menores ($P<0,0001$) valores quando comparados com os Ca. Já os índices PI ($P<0,0001$) e IR ($P<0,0001$) diminuíram com a idade, sendo maior ($P<0,0001$) nos touros Ne em relação aos Ca.

A ecogenicidade do parênquima testicular aumentou ($P<0,0001$) até o pico aos 16 meses de idades dos touros, seguido de queda até estabilizar nas últimas avaliações. Os touros Ne apresentaram maior média de ecogenicidade ($P<0,0001$) em comparação com os touros Ca, bem como maiores médias em todas as avaliações ($P<0,04$).

Na avaliação de heterogeneidade foi observado maior média para os touros Ne quando comparados com Ca. Entretanto, não foi observada diferença entre as raças nas diferentes idades.

Tabela 2 – Médias estimadas dos parâmetros ultrassonográficos (média ± EP) por idade dos touros das raças Nelore (Ne) e Caracu (Ca)

	Idade (meses)						Média
	14	16	18	20	22	24	
Ne	(n = 44)	(n = 43)	(n = 42)	(n = 38)	(n = 36)	(n = 13)	
Diâmetro (cm)	0,19 ± 0,01 ^{Bd}	0,20 ± 0,02 ^{Bd}	0,21 ± 0,02 ^{Bd}	0,23 ± 0,02 ^{cd}	0,32 ± 0,02 ^a	0,30 ± 0,04 ^a	0,24 ± 0,01 ^B
PS (cm/s)	9,3 ± 0,3 ^{Bd}	11,3 ± 0,3 ^{Bc}	12,1 ± 0,3 ^{Bb}	12,2 ± 0,4 ^{Bb}	14,8 ± 0,3 ^a	14,7 ± 0,5 ^a	12,4 ± 0,2 ^B
ED (cm/s)	4,4 ± 0,2 ^{Bd}	6,1 ± 0,3 ^{Bc}	6,5 ± 0,3 ^{Bbc}	6,9 ± 0,3 ^{Bb}	8,3 ± 0,3 ^a	9,4 ± 0,6 ^a	6,9 ± 0,2 ^B
PI	0,94 ± 0,05 ^{Aa}	0,71 ± 0,03 ^{Ab}	0,70 ± 0,03 ^{Ab}	0,72 ± 0,04 ^{Ab}	0,63 ± 0,04 ^{Ac}	0,47 ± 0,07 ^{Ad}	0,74 ± 0,02 ^A
RI	0,54 ± 0,02 ^{Aa}	0,47 ± 0,02 ^{Ab}	0,47 ± 0,02 ^{Ab}	0,46 ± 0,02 ^{Ab}	0,45 ± 0,02 ^{Ab}	0,37 ± 0,05 ^{Ac}	0,41 ± 0,01 ^A
Ecogenicidade	95,8 ± 2,1 ^{Ab}	105,9 ± 1,6 ^{Aa}	95,7 ± 1,2 ^{Ab}	78,2 ± 1,3 ^{Ac}	69,7 ± 1,8 ^{Ad}	75,2 ± 2,9 ^{Ac}	86,6 ± 0,9 ^A
Heterogeneidade	12,1 ± 0,2 ^b	12,9 ± 0,2 ^a	12,9 ± 0,2 ^a	11,2 ± 0,2 ^c	10,9 ± 0,3 ^d	11,6 ± 0,5 ^c	11,9 ± 0,1 ^A
Ca	(n = 42)	(n = 42)	(n = 42)	(n = 42)	(n = 39)	(n = 13)	
Diâmetro (cm)	0,24 ± 0,01 ^{AcD}	0,25 ± 0,02 ^{Ab}	0,26 ± 0,02 ^{Ab}	0,25 ± 0,02 ^b	0,30 ± 0,03 ^a	0,30 ± 0,03 ^a	0,29 ± 0,01 ^A
PS (cm/s)	12,5 ± 0,2 ^{Ad}	13,2 ± 0,4 ^{Ac}	13,8 ± 0,3 ^{Bc}	13,5 ± 0,4 ^{Ac}	14,6 ± 0,4 ^a	15,1 ± 0,5 ^a	13,8 ± 0,2 ^A
ED (cm/s)	7,3 ± 0,2 ^{Ac}	7,5 ± 0,4 ^{Ac}	8,3 ± 0,3 ^{Ab}	9,1 ± 0,3 ^{Aa}	9,5 ± 0,3 ^a	9,5 ± 0,6 ^a	8,6 ± 0,2 ^A
PI	0,61 ± 0,05 ^{Ba}	0,60 ± 0,04 ^{Ba}	0,52 ± 0,03 ^{Bb}	0,40 ± 0,04 ^{Bc}	0,47 ± 0,04 ^{Bbc}	0,44 ± 0,06 ^{Bc}	0,51 ± 0,03 ^B
RI	0,41 ± 0,02 ^{Ba}	0,43 ± 0,02 ^{Ba}	0,39 ± 0,02 ^{Bab}	0,32 ± 0,02 ^{Bc}	0,35 ± 0,03 ^{Bbc}	0,33 ± 0,04 ^{Bc}	0,37 ± 0,01 ^B
Ecogenicidade	83,3 ± 2,5 ^{Bb}	93,7 ± 1,9 ^{Ba}	83,8 ± 1,6 ^{Bb}	63,5 ± 1,7 ^{Bc}	58,3 ± 2,2 ^{Bd}	66,6 ± 3,4 ^{Bc}	74,9 ± 1,3 ^B
Heterogeneidade	10,2 ± 0,3 ^c	12,1 ± 0,2 ^a	11,74 ± 0,2 ^b	10,3 ± 0,3 ^c	9,6 ± 0,4 ^d	10,3 ± 0,6 ^c	10,7 ± 0,2 ^B

Letras maiúsculas sobrescritas representam diferença significativa entre as raças dentro da mesma idade (P<0,05), Letras minúsculas sobrescritas representam diferença significativa do rebanho entre as idades (P<0,05). PS: velocidade do pico sistólico; ED: velocidade diastólica final; IR: índice de resistência vascular; IP: índice de pulsatilidade.

3.3. Avaliação Seminal

Na avaliação seminal (Tabela 3), houve aumento constante da concentração espermática em função do aumento da idade ($P=0,02$). Foi observada diferença entre as raças ($P=0,01$), sendo que os touros Ne apresentaram menor concentração em comparação com os touros Ca. Entretanto, não houve diferença entre as raças nas diferentes idades ($P=0,88$).

Quanto a análise da cinética espermática pelo sistema CASA, foi observado aumento na MT ($P=0,0001$) e MP ($P=0,0001$) ao longo das avaliações. Nessas mesmas características, os touros Ne apresentaram menor média ($P=0,003$ e $P=0,002$, respectivamente) quando comparados com Ca. Os touros Ne apresentaram menor MT em todas as idades em comparação com Ca, com exceção aos 20 meses que não foi observada diferença entre as raças. Não foi observado diferença entre as raças nas demais variáveis de cinética espermática ($P>0,05$).

Na avaliação da morfologia espermática, houve diminuição de defeitos maiores ($P<0,0001$), menores ($P<0,0001$) e totais ($P<0,0001$) com o aumento da idade. Os touros da raça Ne apresentaram maiores porcentagens das patologias espermáticas ($P=0,0007$, $P=0,04$ e $P<0,0001$, respectivamente para defeitos maiores, menores e totais) do que Ca. Nas primeiras avaliações foram observadas maiores porcentagens de defeitos maiores ($P=0,01$) e totais ($P<0,0001$) nos touros Ne em comparação com Ca.

A distribuição dos touros conforme o estado de maturidade sexual (Figura 1) demonstrou diferenças entre as raças. Aos 14 meses, 10% dos touros Nelore (Ne) atingiram a puberdade, enquanto 50% dos touros Caracu (Ca) já eram púberes ($P=0,02$). Aos 18 meses, todos os touros Ca estavam púberes, enquanto os touros Ne alcançaram a puberdade apenas aos 20 meses. A maturidade sexual foi atingida por todos os touros Ca aos 22 meses, enquanto os touros Ne alcançaram esse estágio aos 24 meses.

Tabela 3 - Médias estimadas dos parâmetros seminais (média ± EP) por idade dos touros das raças Nelore (Ne) e Caracu (Ca)

	Idade (meses)						Média
	14	16	18	20	22	24	
Ne	(n = 15)	(n = 24)	(n = 28)	(n = 18)	(n = 16)	(n = 10)	
Concentração (x10 ⁶ /ml)	65,2 ± 91,6 ^a	162,8 ± 77,1 ^a	156,3 ± 59,6 ^a	240,5 ± 77,0 ^a	234,4 ± 72,2 ^{ab}	283,58 ± 83,4 ^a	180,66 ± 48,2 ^B
MT (%)	39,2 ± 18,2 ^{Bbc}	33,4 ± 6,8 ^{Bc}	61,2 ± 5,2 ^{Bb}	72,5 ± 6,8 ^{ab}	73,5 ± 6,4 ^{Ba}	71,84 ± 8,1 ^{Ba}	58,63 ± 3,9 ^B
MP (%)	24,3 ± 15,6 ^d	21,2 ± 5,9 ^d	40,0 ± 4,5 ^c	50,3 ± 5,9 ^b	56,2 ± 5,5 ^a	50,20 ± 7,1 ^a	40,42 ± 3,6 ^B
RAP (%)	56,4 ± 18,5 ^c	24,7 ± 7,0 ^c	59,1 ± 3,3 ^{ab}	58,7 ± 7,0 ^{ab}	63,4 ± 6,5 ^a	63,03 ± 8,4 ^a	54,27 ± 4,1
VAP (µm/s)	74,9 ± 12,1 ^{ab}	52,9 ± 4,6 ^c	79,6 ± 3,5 ^a	78,5 ± 4,6 ^{ab}	71,8 ± 4,3 ^b	52,62 ± 5,6 ^c	68,42 ± 2,9
VSL (µm/s)	59,1 ± 8,9 ^b	43,0 ± 3,4 ^c	67,2 ± 2,7 ^a	63,9 ± 3,4 ^b	59,7 ± 3,2 ^b	43,07 ± 4,2 ^c	56,03 ± 2,2
VCL (µm/s)	130,9 ± 22,4	94,1 ± 8,5	129,8 ± 6,7	132,3 ± 8,5	115,1 ± 8,0	90,23 ± 10,3	115,44 ± 5,2
ALH (µm)	5,6 ± 2,2	4,4 ± 0,8	5,4 ± 0,6	5,8 ± 0,8	5,1 ± 0,7	4,33 ± 1,0	5,14 ± 0,5
BCF (Hz)	30,5 ± 4,7	27,0 ± 1,8	34,3 ± 1,3	32,0 ± 1,8	28,2 ± 1,7	19,42 ± 2,2	28,61 ± 1,2
STR (%)	73,4 ± 10,3 ^{ab}	66,9 ± 3,9 ^b	82,0 ± 3,5 ^a	80,4 ± 3,9 ^a	83,1 ± 3,7 ^a	41,35 ± 4,8 ^c	71,23 ± 2,4
LIN (%)	42,0 ± 6,9 ^{bc}	39,4 ± 2,7 ^c	52,4 ± 2,6 ^a	49,9 ± 2,7 ^{ab}	54,6 ± 2,5 ^a	27,48 ± 3,3 ^d	44,34 ± 1,8
Def Maior (%)	46,6 ± 9,3 ^{Aa}	41,2 ± 3,6 ^{Aa}	21,5 ± 2,8 ^b	22,0 ± 3,6 ^{Ab}	7,9 ± 3,3 ^c	8,11 ± 4,37 ^c	24,59 ± 2,2 ^A
Def Menor (%)	30,6 ± 4,8 ^a	10,9 ± 1,8 ^{Bb}	6,4 ± 1,4 ^c	7,0 ± 1,8 ^c	1,8 ± 1,7 ^d	2,05 ± 2,2 ^d	9,84 ± 1,2 ^A
Def Total (%)	77,0 ± 9,7 ^{Aa}	52,1 ± 3,7 ^{Ab}	28,0 ± 2,9 ^c	29,5 ± 3,7 ^{Ac}	9,9 ± 3,5 ^d	10,39 ± 4,5 ^d	34,48 ± 2,4 ^A
Ca	(n = 26)	(n = 28)	(n = 28)	(n = 18)	(n = 18)	(n = 8)	
Concentração (x10 ⁶ /ml)	92,2 ± 108,2 ^d	137,9 ± 72,3 ^{cd}	231,4 ± 68,4 ^{bc}	344,1 ± 77,2 ^a	304,3 ± 77,2 ^{ab}	388,7 ± 128,0 ^a	344,7 ± 43,0 ^A
MT (%)	63,2 ± 9,1 ^{Ac}	67,3 ± 6,4 ^{Ac}	80,0 ± 6,0 ^{Ab}	69,2 ± 6,8 ^c	87,8 ± 6,8 ^{Aab}	91,2 ± 11,5 ^{Aa}	74,8 ± 3,3 ^A
MP (%)	43,0 ± 7,8 ^c	49,7 ± 5,5 ^c	58,9 ± 5,2 ^b	44,4 ± 5,9 ^c	67,1 ± 5,9 ^a	69,8 ± 9,9 ^a	55,5 ± 3,1 ^A
RAP (%)	50,6 ± 9,3 ^{bc}	56,5 ± 6,5 ^{ab}	67,4 ± 6,2 ^{ab}	49,8 ± 7,0 ^{bc}	75,8 ± 7,0 ^a	84,1 ± 11,7 ^a	64,0 ± 3,5
VAP (µm/s)	66,6 ± 6,1 ^b	68,6 ± 4,3 ^b	74,8 ± 4,1 ^a	74,6 ± 4,6 ^a	79,0 ± 4,6 ^a	80,1 ± 7,7 ^a	74,0 ± 2,5
VSL (µm/s)	55,3 ± 4,5 ^c	59,4 ± 3,2 ^{bc}	61,6 ± 3,1 ^{ab}	62,3 ± 3,4 ^{ab}	65,8 ± 3,4 ^a	67,4 ± 5,6 ^a	62,0 ± 2,1
VCL (µm/s)	110,7 ± 11,2	111,1 ± 8,0	122,3 ± 7,5	121,3 ± 8,5	126,0 ± 8,5	129,7 ± 14,2	120,2 ± 4,6
ALH (µm)	5,1 ± 1,1	4,8 ± 0,7	5,4 ± 0,7	7,8 ± 0,8	5,7 ± 0,8	5,7 ± 1,4	5,7 ± 0,4
BCF (Hz)	27,7 ± 2,4	31,5 ± 1,7	30,5 ± 1,6	29,9 ± 1,8	28,6 ± 1,8	24,4 ± 3,0	28,8 ± 1,1
STR (%)	65,3 ± 5,2 ^c	82,1 ± 3,7 ^a	82,5 ± 3,5 ^a	83,0 ± 3,9 ^a	82,9 ± 3,9 ^a	71,2 ± 6,5 ^b	77,8 ± 2,1
LIN (%)	42,5 ± 3,5 ^b	55,2 ± 2,6 ^a	53,1 ± 2,4 ^a	54,0 ± 2,7 ^a	54,4 ± 2,7 ^a	46,8 ± 4,4 ^b	51,0 ± 1,7
Def Maior (%)	30,5 ± 5,9 ^a	28,6 ± 3,3 ^a	19,1 ± 3,2 ^b	15,1 ± 3,6 ^b	6,9 ± 3,6 ^c	4,7 ± 5,9 ^c	13,2 ± 2,1 ^B
Def Menor (%)	33,2 ± 3,0 ^a	17,2 ± 1,7 ^b	5,2 ± 1,6 ^c	6,2 ± 1,8 ^c	2,7 ± 1,8 ^d	4,6 ± 3,0 ^{cd}	6,7 ± 1,1 ^B
Def Total (%)	62,8 ± 6,1 ^a	46,0 ± 3,5 ^b	24,8 ± 3,3 ^c	21,7 ± 3,7 ^c	9,6 ± 3,7 ^d	9,3 ± 6,2 ^d	20,0 ± 2,3 ^B

Letras maiúsculas sobrescritas representam diferença significativa entre as raças dentro da mesma idade (P<0,05), Letras minúsculas sobrescritas representam diferença significativa do rebanho entre as idades (P<0,05).

PS: velocidade do pico sistólico; ED: velocidade diastólica final; IR: índice de resistência vascular; IP: índice de pulsatilidade.

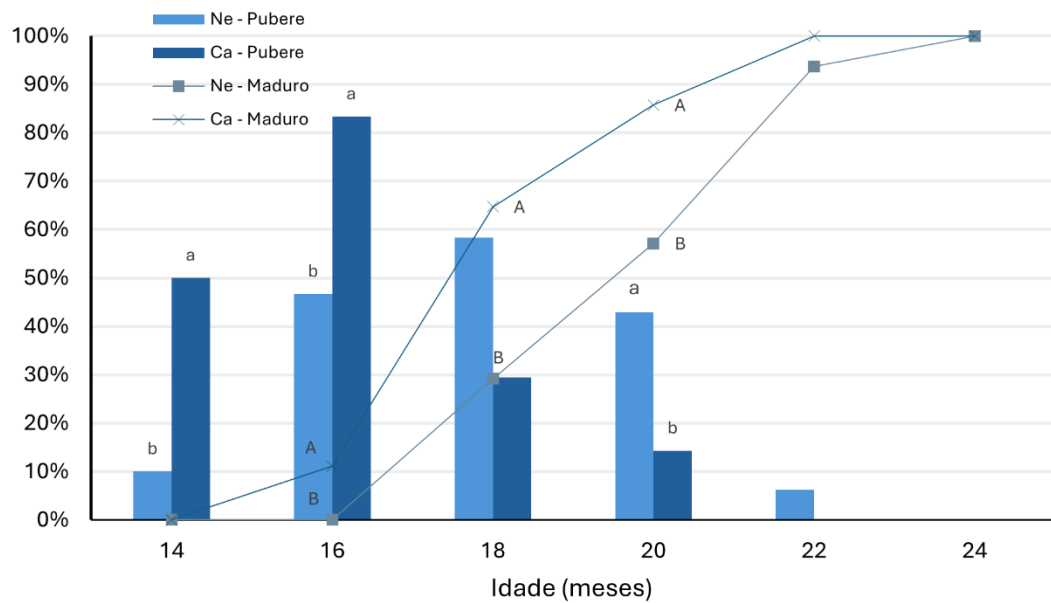


Figura 1 – Proporção de touros Imaturos, Púberes e em Maturidade sexual de acordo com a idade. Letras maiúsculas representam diferença significativa da porcentagem de animais em maturidade sexual entre as raças dentro da mesma idade ($P < 0,05$). Letras minúsculas sobrescritas representam diferença significativa da porcentagem de animais púberes entre as raças dentro da mesma idade ($P < 0,05$).

3.4. Citologia aspirativa

Na contagem diferencial de células presentes na citologia aspirativa (Tabela 4), foi observado aumento nas concentrações de espermátides ($P<0,0001$) e espermátides alongadas ($P=0,04$), espermátócitos ($P=0,01$) e espermatozoides ($P=0,002$). Por outro lado, a porcentagem de células de Sertoli apresentou diminuição ao longo das avaliações ($P=0,006$). A raça Ne apresentou menor quantidade de espermátides alongadas ($P=0,03$) e espermatozoides ($P=0,01$), além de maior quantidade de células de Sertoli ($P=0,02$) em comparação à raça Ca.

Tabela 4 – Médias estimadas (média \pm EP) das variáveis da citologia aspirativa dos touros das raças Nelore (Ne) e Caracu (Ca)

	14	16	18	Média
Ne	(n = 10)	(n = 10)	(n = 10)	
Espermatogônia	5,7 \pm 1,1	6,5 \pm 0,8	5,8 \pm 1,2	6,1 \pm 0,6
Espermátide	7,9 \pm 3,9 ^c	14,6 \pm 3,2 ^b	28,4 \pm 5,8 ^a	18,8 \pm 2,2
Espermátide alongada	16,4 \pm 5,1 ^c	28,4 \pm 4,1 ^b	33,8 \pm 4,5 ^{Ba}	23,2 \pm 2,8 ^B
Espermátócito	12,5 \pm 2,4 ^b	20,9 \pm 2,1 ^a	21,1 \pm 3,0 ^a	18,2 \pm 1,5
Espermatozoide	13,7 \pm 2,3 ^c	19,0 \pm 1,6 ^{Bb}	23,4 \pm 2,7 ^a	18,7 \pm 1,2 ^B
Sertoli	39,0 \pm 6,0 ^{Aa}	36,1 \pm 5,1 ^a	21,2 \pm 7,4 ^{Ab}	32,1 \pm 3,6 ^A
Ca	(n = 10)	(n = 10)	(n = 10)	
Espermatogônia	5,3 \pm 0,9	4,2 \pm 0,9	6,0 \pm 1,3	5,2 \pm 0,6
Espermátide	16,6 \pm 3,3 ^b	15,7 \pm 3,4 ^b	26,9 \pm 6,3 ^a	19,4 \pm 2,2
Espermátide alongada	28,0 \pm 4,1 ^b	20,4 \pm 4,4 ^c	40,9 \pm 4,9 ^{Aa}	29,1 \pm 2,9 ^A
Espermátócito	13,2 \pm 2,3 ^b	18,6 \pm 2,3 ^a	13,1 \pm 3,3 ^b	15,0 \pm 1,5
Espermatozoide	18,3 \pm 1,7 ^b	25,8 \pm 1,6 ^{Aa}	24,7 \pm 2,4 ^a	22,9 \pm 1,1 ^A
Sertoli	27,4 \pm 5,3 ^{Ba}	31,1 \pm 5,6 ^a	11,7 \pm 8,1 ^{Bb}	20,0 \pm 3,7 ^B

Letras maiúsculas sobrescritas representam diferença significativa entre as raças dentro da mesma idade ($P<0,05$).

Letras minúsculas sobrescritas representam diferença significativa do rebanho entre as idades ($P<0,05$).

3.5. Histologia

Na avaliação histológica (Tabela 5), foi observada maior contagem de túbulos seminíferos ($P=0,006$) na raça Ne em relação ao Ca. Não foram observadas diferenças entre as raças no diâmetro do lúmen, espessura de parede e diâmetro dos túbulos seminíferos, bem como suas respectivas proporções.

Tabela 5 – Médias estimadas (média \pm EP) das variáveis histológicas dos touros das raças Nelore (Ne) e Caracu (Ca)

	Ne	Ca
	(n = 10)	(n = 10)
Lúmen (μm)	78,6 \pm 3,1	82,2 \pm 3,2
Parede (μm)	55,1 \pm 2,1	54,7 \pm 2,1
Diâmetro Túbulos Seminíferos (μm)	179,0 \pm 4,3	186,2 \pm 4,3
XTS	96,8 \pm 5,1 ^A	76,6 \pm 5,1 ^B
Lúmen x Túbulo	43,9 \pm 1,2	43,8 \pm 1,2
Lúmen x Parede	71,4 \pm 4,9	72,2 \pm 4,9
Parede x Túbulo	31,0 \pm 1,4	24,5 \pm 1,4

XTS: Quantidade média de túbulos seminíferos por campo (em aumento de 40x); Lúmen x Túbulo: razão do tamanho do lúmen pelo diâmetro do túbulo seminífero; Lúmen x Parede: razão do tamanho do lúmen pela espessura da parede do túbulo seminífero; Parede x Túbulo: razão da espessura de parede pelo diâmetro total do túbulo seminífero.

4. DISCUSSÃO

O estudo das diferenças entre raças zebuínas e taurinas representa um avanço no desenvolvimento de novas estratégias voltadas à melhoria da produção de bovinos, uma vez que conhecer os pontos vantajosos e as limitações de cada raça, permite ajustar a produção a fim de aumentar a produtividade. Taurinos normalmente são menos resistentes às condições tropicais e podem não ter a mesma performance, assim a utilização de um taurino adaptado, como o Caracu, seria uma estratégia para contornar esse problema (Lima et al., 2020).

Durante o desenvolvimento sexual dos touros jovens no presente estudo, foram observadas maiores biometrias testiculares na raça Ca em relação aos Ne. Em geral,

taurinos normalmente possuem testículos maiores do que zebuínos (Brito et al., 2004b; Pagoto et al., 2023). Segundo Brito et al. (2004b) o formato testicular da raça Ne representa um dos mecanismos de adaptabilidade e capacidade termorregulatória. Outro fator que justifica essa diferença é o tempo necessário para atingir a puberdade e a maturidade sexual, sendo que touros taurinos levam menos tempo para se desenvolver quando comparado à touros zebuínos (Brito, 2021; Brito et al., 2004a). Isso pode ser confirmado com o maior crescimento testicular dos touros Ne em comparação com os Ca. Durante o período experimental, o PE aumentou $34,9 \pm 3,1\%$ dos touros Ne, enquanto nos touros Ca o aumento foi de $15,9 \pm 2,5\%$. Esses resultados podem estar relacionados com o período do desenvolvimento sexual das duas raças, uma vez que antes da puberdade, ocorre um crescimento acelerado dos testículos, caracterizado pelo aumento do diâmetro e comprimento dos túbulos seminíferos, expansão das camadas tubulares e aumento nas quantidades de células de Leydig no interstício do parênquima testicular (Brito, 2024; Curtis and Amann, 1981; Michalek et al., 2024). Já após atingir a puberdade, o crescimento desacelera até atingir um platô (Brito, 2021).

Na ultrassonografia doppler foi observado menor diâmetro da artéria testicular dos touros Ne em comparação aos touros Ca. Esse resultado corrobora com as menores médias no PS e ED, assim como maiores valores para PI e RI dos touros Ne em relação aos Ca. Tal diferença pode ser atribuída ao fato de que vasos com maiores diâmetros facilitam o fluxo sanguíneo, resultando em menores valores de PI e RI. Esses índices representam a dificuldade com que o sangue cursa esse caminho, concomitantemente a velocidade média do sangue também será afetada (Strina et al., 2016). Brito et al. (2004b) observaram que touros zebuínos apresentaram maior comprimento da artéria testicular proporcionalmente ao volume testicular em comparação com taurinos, apresentando de 15 a 18 curvaturas (Viana e Borelli, 1991). O menor diâmetro da artéria, junto com o maior enovelamento vascular (Rodrigues et al., 2020), resulta em menor velocidade média do fluxo sanguíneo e maior resistência. Isso possivelmente proporciona maior troca de temperatura com as veias envolventes.

A ecogenicidade e heterogeneidade foram maiores nos animais Ne em comparação aos animais Ca. Avaliando as mesmas raças, Rodrigues et al. (2020) relataram resultados similares aos do presente estudo. Essa diferença pode estar

relacionada a fase do desenvolvimento sexual, uma vez que antes da puberdade ocorre aumento substancial da ecogenicidade do parênquima testicular, provavelmente relacionado com as diferenciações e aumento das atividades celulares (Brito et al., 2012; Kastelic, 2014). Assim como relatado por Brito et al. (2012), no presente estudo foi observada variação da ecogenicidade no decorrer das idades.

Menores valores de concentração espermática e MT foram observados no ejaculado de touros Ne em comparação com touros Ca. Já nos defeitos espermáticos os ejaculados de touros Ne apresentaram maior porcentagem de defeitos maiores e totais dos 14 aos 20 meses do que os touros Ca. Esses resultados confirmam que a diferença na qualidade seminal entre Ne e Ca ocorreu por causa da diferença do estágio de desenvolvimento sexual nas idades avaliadas, uma vez que não houve diferença entre as raças após todos os touros estarem púberes ou em maturidade sexual. Isso confirma os achados de outros estudos que compararam a qualidade seminal entre zebuínos e taurinos e não relataram diferença (Pagoto et al., 2023; Silva et al., 2009; Brito et al., 2002). Outros estudos observaram maior porcentagem de defeitos maiores em taurinos do que em animais zebuínos, porém essa diferença só foi relatada em época de verão com altas temperaturas (Leite et al., 2021; Nichi et al., 2006). No presente estudo, ao final do período experimental, quando os animais se apresentaram em maturidade sexual, o hemisfério sul estava em primavera, estação caracterizada pela elevação das temperaturas, embora ainda não atingindo seu pico.

Na análise de citologia pela técnica da punção aspirativa, a maior porcentagem de espermátides e espermátides alongadas, em relação às demais células, podem indicar que o processo de espermatogênese está adequado (Garolla et al., 2014), sendo a presença de espermatozoides um indicativo adicional para confirmar essa condição. No presente estudo foram observadas menores porcentagens de espermátides alongadas e espermatozoides, assim como maior porcentagem de células de Sertoli nos aspirados dos touros Ne do que dos Ca. Isso sugere que os touros Ca estavam em estágio mais avançado do desenvolvimento sexual do que os Ne.

Na análise histológica não foram encontradas diferenças entre as raças, exceto pela contagem de túbulos seminíferos que foi maior nos touros Ne em comparação com os touros Ca. Segundo Rohländer et al. (2020), a maior contagem de túbulos

cortados na transversal está inversamente relacionada com a idade. Considerando que o desenvolvimento sexual está altamente relacionado com a idade, é possível que a maior contagem de túbulos pode refletir estágios mais imaturos do desenvolvimento testicular. Estes autores também observaram que a contagem de túbulos estava relacionada com o tamanho dos túbulos (diâmetro interno e externo) e à espessura da parede dos túbulos seminíferos. Entretanto, no presente estudo, essa relação não foi observada, uma vez que essas variáveis não diferiram entre as raças. Essa divergência pode estar relacionada com a espessura do tecido intersticial; este é constituído por uma fina camada entre dois túbulos seminíferos ou grande camada triangular ou quadrangular entre três ou quatro túbulos seminíferos, nesses últimos há a presença de grandes aglomerados de células de Leydig e vasos intratesticulares maiores (sangue e linfa) (Ahmed et al., 2005; Michałek et al., 2024).

5. CONCLUSÃO

Os touros jovens da raça Nelore apresentam desenvolvimento sexual mais lento, alcançando a puberdade e a maturidade sexual aproximadamente dois meses após os touros jovens da raça Caracu. De maneira geral, os touros Caracu demonstram boa adaptabilidade ao clima subtropical, sem apresentar efeitos adversos no sistema reprodutor durante o período experimental. Por outro lado, os touros Nelore se destacaram pelos parâmetros vasculares do plexo pampiniforme que indicam ser mais adequados para a termorregulação testicular em clima tropical.

REFERÊNCIAS

- Abduch, NG, Pires, BV, Souza, LL, Vicentini, RR, Zadra, LEF, Fragomeni, BO, Silva, RMO, Baldi, F, Paz, CCP, Stafuzza, NB, (2022). Effect of Thermal Stress on Thermoregulation, Hematological and Hormonal Characteristics of Caracu Beef Cattle. **Animals** 12. <https://doi.org/10.3390/ani12243473>
- Abduch, NG, Reolon, HG, Liori, VA, Silva, RM de O, Veríssimo, CJ, Paz, CCP, Stafuzza, NB, (2024). Resistance to natural tick infestation varies with age and coat and hair traits in a tropically adapted beef cattle breed. **Vet Parasitol Reg Stud Reports** 50. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2024.101017>.

Angel, SP, Amitha, JP, Rashamol, VP, Vandana, GD, Savitha, ST, (2018). Climate Change and Cattle Production: Impact and Adaptation. **Journal of Veterinary Medicine and Research**, 5(4), 1134.

Aponte, PM, De Rooij, DG, Bastidas, P, (2005). Testicular development in Brahman bulls. **Theriogenology** 64, 1440–1455. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.03.016>

Bailey, TL, Hudson, RS, Powe, TA, Riddell, MG, Wolfe, DF, Carson, RL, (1998). Caliper and ultrasonographic measurements of bovine testicles and a mathematical formula for determining testicular volume and weight in vivo. **Theriogenology** 49, 581–594. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(98\)00009-0](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(98)00009-0)

Bastos, YHGB, Silva, C.F. da, Gomes, G.M., Peixoto Júnior, K.D.C., Gomes, L.P. de M., Papa, F.O., Crespilho, AM, (2015). Avaliação de diferentes técnicas de coloração para esfregaços obtidos por punção biópsia aspirativa testicular de bovinos. **Revista de Saúde** 6, 05. <https://doi.org/10.21727/rs.v6i2.961>

Benfica, LF, Brito, LF, do Bem, RD, de Oliveira, LF, Mulim, HA, Braga, LG, Cyrillo, JNSG, Bonilha, SFM, Mercadante, MEZ, (2024). Detection and characterization of copy number variation in three differentially-selected Nellore cattle populations. **Front Genet** 15. <https://doi.org/10.3389/fgene.2024.1377130>

Brito, LFC, Silva, AEDF, Barbosa, RT, Kastelic, JP, (2004b). Testicular thermoregulation in *Bos indicus*, crossbred and *Bos taurus* bulls: relationship with scrotal, testicular vascular cone and testicular morphology, and effects on semen quality and sperm production. **Theriogenology** 61, 511–528. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(03\)00231-0](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(03)00231-0)

Brito, LFC, (2021). Sexual Development and Puberty in Bulls, in: **Bovine Reproduction**. wiley, pp. 58–78. <https://doi.org/10.1002/9781119602484.ch6>

Brito, LFC, (2024). Nutrition and Sexual Development in Bulls. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice** 40, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2023.08.002>

Brito, LFC, Barth, AD, Wilde, RE, Kastelic, JP, (2012). Testicular ultrasonogram pixel intensity during sexual development and its relationship with semen quality, sperm production, and quantitative testicular histology in beef bulls. **Theriogenology** 78, 69–76. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.01.022>

Brito, LFC, Silva, AEDF, Rodrigues, LH, Vieira, FV, Deragon, LAG., Kastelic, JP, 2002. Effect of age and genetic group on characteristics of the scrotum, testes and testicular vascular cones, and on sperm production and semen quality in AI bulls in Brazil. **Theriogenology** 58, 1175–1186. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(02\)00921-4](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(02)00921-4)

Brito, LFC, Silva, AEDF, Unanian, MM, Dode, MAN, Barbosa, RT, Kastelic, JP, (2004a). Sexual development in early- and late-maturing *Bos indicus* and *Bos indicus* x *Bos taurus* crossbred bulls in Brazil. **Theriogenology** 62, 1198–1217. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.01.006>

CBRA, 2013. Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal, 3rd ed. Belo Horizonte.

Colombi, D, Perini, F, Bettini, S, Mastrangelo, S, Abeni, F, Conte, G, Marletta, D, Cassandro, M, Bernabucci, U, Ciampolini, R, Lasagna, E, (2024). Genomic responses to climatic challenges in beef cattle: A review. **Animal Genetics**, 55(6), 854–870. <https://doi.org/10.1111/age.13474>

Crespilho, AM, Ferreira, CS, Bastos, YHGB, Guasti, PN, Nascimento, JC, de Oliveira Pimenta Guimarães, K, Agopian, RG, Gomes, GM, da Cunha Peixoto, K, (2019). Testicular needle aspiration: Is it a safe method for breeding soundness evaluation in bulls? **Anim Reprod** 16, 880–886. <https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR2019-0007>

Curtis, SK, Amann, RP, (1981). Testicular Development and Establishment of Spermatogenesis in Holstein Bulls. **J Anim Sci** 53, 1645–1657. <https://doi.org/10.2527/jas1982.5361645x>

Feliciano, MAR, Vicente, WRR, Silva, MAM, (2012). Conventional and Doppler ultrasound for the differentiation of benign and malignant canine mammary tumours. **Journal of Small Animal Practice** 53, 332–337. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2012.01227.x>

Garolla, A, Selice, R, Engl, B, Bertoldo, A, Menegazzo, M, Finos, L, Lenzi, A, Foresta, C, (2014). Spermatid count as a predictor of response to FSH therapy. **Reprod Biomed Online** 29, 102–112. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2014.02.014>

Giffin, JL, Franks, SE, Rodriguez-Sosa, JR, Hahnel, A, Bartlewski, PM, (2009). A Study of Morphological and Haemodynamic Determinants of Testicular Echotexture Characteristics in the Ram. **Exp Biol Med** 234, 794–801. <https://doi.org/10.3181/0812-RM-364>

Kastelic, JP, (2014). Understanding and evaluating bovine testes. **Theriogenology**. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.09.001>

Leite, RF, de Agostini Losano, JD, de Souza Ramos Angrimani, D, Sousa, RGB, de Miranda Alves, Á, Cavallin, MD, Kawai, GKV, Cortada, CNM, Zuge, RM, Nichi, M, (2021). Reproductive parameters of *Bos taurus* and *Bos indicus* bulls during different seasons in tropical conditions: focus on an alternative approach to testicular assessments using ultrasonography. **Anim Reprod Sci** 225. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106668>

Lima, SBGNP, Stafuzza, NB, Pires, BV, Bonilha, SFM, Cyrillo, JNSG, Negrão, JA, Paz, CCP, (2020). Effect of high temperature on physiological parameters of Nelore (*Bos taurus indicus*) and Caracu (*Bos taurus taurus*) cattle breeds. **Trop Anim Health Prod** 52, 2233–2241. <https://doi.org/10.1007/s11250-020-02249-y>

Mercadante, MEZ, Packer, IU, Razook, AG, Cyrillo, JNSG, Figueiredo, LA, (2003). Direct and correlated responses to selection for yearling weight on reproductive performance of Nelore cows. **J Anim Sci** 81, 376–384. <https://doi.org/10.2527/2003.812376x>

Michalek, K, Grabowska, M, Oberska, P, Gączarzewicz, D, Syczewski, A, Tripon, SC, Barbu-Tudoran, L, Suci, M, (2024). Ultrastructure of the Bovine Testis in Cattle (*Bos taurus*): New View. **Animals** 14, 1777. <https://doi.org/10.3390/ani14121777>

Mirkena, T, Duguma, G, Haile, A, Tibbo, M, Okeyo, AM, Wurzinger, M, Sölkner, J, (2010). Genetics of adaptation in domestic farm animals: A review. **Livest Sci** 132, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.05.003>

Nichi, M, Bols, PEJ, Züge, RM, Barnabe, VH, Goovaerts, IGF, Barnabe, RC, Cortada, CNM, (2006). Seasonal variation in semen quality in *Bos indicus* and *Bos taurus* bulls raised under tropical conditions. **Theriogenology** 66, 822–828. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.01.056>

Pagoto, JM, Benfica, LF, Borges, MS, Lorigi, VA, Canesin, RC, Mercadante, MEZ, Monteiro, FM, (2023). Relationship between age, scrotal circumference, postweaning weight and semen quality in Nelore and Caracu bulls: a cross sectional study. **Trop Anim Health Prod** 55. <https://doi.org/10.1007/s11250-023-03818-7>

Rodrigues, NN, Rossi, GF, Vrisman, DP, Taira, AR, Souza, LL, Zorzetto, MF, Bastos, NM, de Paz, CCP, de Lima, VFMH, Monteiro, FM, Franco Oliveira, ME, (2020). Ultrasonographic characteristics of the testes, epididymis and accessory sex glands

and arterial spectral indices in peri- and post-pubertal Nelore and Caracu bulls. **Anim Reprod Sci** 212. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.106235>

Rohländer, M, Otzen, H, Rode, K, Jung, K, Schmicke, M, Harborth, T, Langeheine, M, Brehm, R, Bajcsy, ÁC, (2020). Histological comparison of testicular needle biopsy and EN bloc samples in abattoir calves. **Animals** 10. <https://doi.org/10.3390/ani10050918>

Sejian, V, Bhatta, R, Gaughan, JB, Dunshea, FR, Lacetera, N, (2018). Review: Adaptation of animals to heat stress. **Animal**. <https://doi.org/10.1017/S1751731118001945>

Silva, AR da, Ferraudo, AS, Perecin, D, Lima, VFMH de, (2009). Efeito da idade do touro e do período de colheita de sêmen sobre as características físicas e morfológicas do sêmen de bovinos de raças europeias e zebuínas. **Revista Brasileira de Zootecnia** 38, 1218–1222. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982009000700009>

Strina, A, Corda, A, Nieddu, S, Solinas, G, Lilliu, M, Zedda, MT, Pau, S, Ledda, S, (2016). Annual variations in resistive index (RI) of testicular artery, volume measurements and testosterone levels in bucks. **Comp Clin Path** 25, 409–413. <https://doi.org/10.1007/s00580-015-2199-4>

Tomlinson, M, Jennings, A, Macrae, A, Truylers, I, (2017). The value of trans-scrotal ultrasonography at bull breeding soundness evaluation (BBSE): The relationship between testicular parenchymal pixel intensity and semen quality. **Theriogenology**, 89, 169–177. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.10.020>

Viana, WG, Borelli, V, (1991). Contribuição ao estudo do funículo espermático em bovinos da raça Nelore. **Braz J Vet Res Anim Sci** 28, 11. <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.1991.51919>

Warner, RD, Greenwood, PL, Pethick, DW, Ferguson, DM, (2010). Genetic and environmental effects on meat quality. **Meat Science**, 86(1), 171–183. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.04.042>

Wolf, FR, Almquist, JO, Hale, EB, (1965). Prepuberal Behavior and Puberal Characteristics of Beef Bulls on High Nutrient Allowance. **J Anim Sci** 24, 761–765. <https://doi.org/10.2527/jas1965.243761x>

Wood, MM, Romine, LE, Lee, YK, Richman, KM, O'Boyle, MK, Paz, DA, Chu, PK, Pretorius, DH, (2010). Spectral Doppler Signature Waveforms in Ultrasonography. **Ultrasound Q** 26, 83–99. <https://doi.org/10.1097/RUQ.0b013e3181dcbf67>